

## **Minerais na eficiência reprodutiva de bovinos**



ISSN 1980-6841

Abril, 2008

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Pecuária Sudeste  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

# ***Documentos 80***

## **Minerais na eficiência reprodutiva de bovinos**

Maria Luiza Franceschi Nicodemo  
José Robson Bezerra Sereno  
Thaís Basso Amaral

São Carlos, SP  
2008

**Embrapa Pecuária Sudeste**

Rodovia Washington Luiz, km 234  
Caixa Postal 339 - 13560-970 - São Carlos, SP  
Fone: (16) 3411-5600  
Fax: (16) 3361-5754  
Home page: <http://www.cppse.embrapa.br>  
Endereço eletrônico: [sac@cppse.embrapa.br](mailto:sac@cppse.embrapa.br)

**Comitê de Publicações da Unidade**

Presidente: Rui Machado  
Secretário-Executivo: Edison Beno Pott  
Membros: Carlos Eduardo Silva Santos, Maria Cristina C. Brito,  
Waldomiro Barioni Junior, Sônia Borges de Alencar

Revisor de texto: Edison Beno Pott  
Normalização bibliográfica: Sônia Borges de Alencar  
Fotos da capa: J.R. Sereno  
Editoração eletrônica: Maria Cristina Campanelli Brito

**1ª edição on-line****Todos os direitos reservados.**

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte,  
constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação - CIP  
Embrapa Pecuária Sudeste**

---

Nicodemo, Maria Luiza F.

Minerais na eficiência reprodutiva de bovinos [Recurso eletrônico] /  
Maria Luiza F. Nicodemo [et al.].— São Carlos: Embrapa Pecuária  
Sudeste, 2008.

Modo de acesso: <[http://www.cppse.embrapa.br/080servicos/  
070publicacaogratis/documentos/documentos80.pdf/view](http://www.cppse.embrapa.br/080servicos/070publicacaogratis/documentos/documentos80.pdf/view)>

Título da página na Web (acesso em 10 de abril de 2008)  
50 p. (Documentos / Embrapa Pecuária Sudeste, 80).

ISSN: 1980-6841

1. Bovinos - Eficiência reprodutiva - Minerais. I. Nicodemo, Maria Luiza F.  
II. Sereno, José Robson B. III. Amaral, Tháís Basso IV. Título. V. Série.

---

CDD: 636.089

© Embrapa 2008

# **Autores**

## **Maria Luiza Franceschi Nicodemo**

Zootecnista, Dra., Pesquisadora da Embrapa Pecuária Sudeste, Rod. Washington Luiz, km 234, Caixa Postal 339, CEP: 13560-970, São Carlos, SP.

Fone (16) 3411-5600 Fax (16) 33615754

Endereço eletrônico: mlnicodemo@cnpse.embrapa.br

## **José Robson Bezerra Sereno**

Pesquisador da Embrapa Cerrados, Br 020, km 18, Caixa Postal 08223, CEP: 73310-970, Planaltina, DF.

Fone (61) 3388-9965 Fax (61) 3388-9879

Endereço eletrônico: sereno@cpac.embrapa.br

## **Thaís Basso Amaral**

Pesquisadora da Embrapa Gado de Corte, Br 262 km 4, Caixa Postal 154, CEP: 79002-970, Campo Grande, MS.

Fone (67) 3368-2000 Fax (67) 3368-2150

Endereço eletrônico: thaís@cnpqc.embrapa.br

# Sumário

1. Introdução .....	6
2. O estresse oxidativo .....	9
3. Importância dos minerais na fisiologia da reprodução de matrizes .....	15
4. O papel individual de minerais na reprodução de matrizes bovinas .....	25
5. Importância dos minerais na fertilidade e na libido de reprodutores .....	43
6. Correção de deficiências minerais .....	50
7. Comentários finais .....	53
8. Referências bibliográficas .....	53

# Minerais na eficiência reprodutiva de bovinos

---

*Maria Luiza Franceschi Nicodemo*

*José Robson Bezerra Sereno*

*Thaís Basso Amaral*

## 1. Introdução

A maior parte dos problemas reprodutivos de bovinos deve-se ao consumo insuficiente de energia e de proteína (Simms et al., 1998). Entretanto, muitas pastagens, como as cultivadas no Brasil Central, são também deficientes em fósforo (P), zinco (Zn), cobre (Cu), cobalto (Co), iodo (I), sódio (Na) e selênio (Se). As exigências de microelementos para ótimo desempenho reprodutivo não foram ainda bem caracterizadas.

Um nutriente é considerado essencial se sua remoção da dieta interfere na habilidade do organismo de sobreviver e de se reproduzir. A ingestão contínua de dietas deficientes ou desequilibradas torna mais difícil a manutenção de concentrações ótimas dos nutrientes essenciais nos tecidos. No caso dos minerais essenciais, alterações bioquímicas podem desenvolver-se, de modo a prejudicar as funções fisiológicas e a levar a desordens estruturais. Essas desordens variam com o mineral, a intensidade e a duração da deficiência, e a idade, o sexo e a espécie do animal afetado. O apetite é geralmente influenciado rapidamente, acompanhado de queda na produção animal. Os mecanismos homeostáticos entram em ação para minimizar os efeitos dessas mudanças, mas para que o processo seja revertido é necessária a correção da dieta (Underwood, 1981; Little, 1984).

A deficiência mineral é geralmente múltipla, isto é, de vários elementos ao mesmo tempo, e pode estar acompanhada por problemas infecciosos, especialmente nas deficiências dos microelementos zinco, cobre, ferro (Fe), selênio e iodo, que podem aumentar a susceptibilidade a infecções (Suttle & Jones, 1989; Chandra, 1997). Excessos de zinco e de selênio

também podem deprimir a resposta imunológica; por isso, recomenda-se cautela diante de algumas propostas de suplementação exageradamente acima das exigências nutricionais estimadas. A deficiência de determinado mineral pode ser mascarada pela inadequação de outros componentes da dieta. Quando se corrige a deficiência principal, por exemplo, de proteína, se acentua a necessidade de outros nutrientes. A deficiência de minerais geralmente ocasiona redução no consumo e na utilização do alimento; assim, tem efeitos indiretos na eficiência reprodutiva e dificulta a identificação de efeitos específicos daquela(s) deficiência(s).

Na gestação, tanto a mãe como o embrião<sup>1</sup> e o feto produzem grande quantidade de espécies reativas de oxigênio, radicais livres, que têm papel importante na sinalização celular e no controle do desenvolvimento do embrião e do feto – replicação, diferenciação e maturação das células e dos órgãos. O estresse oxidativo, isto é, o desequilíbrio entre a formação e a remoção de radicais livres, destaca-se na indução de patologias e em falhas na gestação. No estresse oxidativo, pode haver peroxidação de componentes celulares, o que leva a morte celular, necrose e danos ao material genético. Esses desequilíbrios são mais frequentes em matrizes expostas ao estresse ambiental (Guérin et al., 2001; Aurousseau et al., 2006). Dado o papel importante de metaloenzimas – que são enzimas que possuem um íon metálico no seu grupo ativo –, tais como as superóxido-dismutases e a glutatona-peroxidase, na inativação dos radicais livres, a suplementação mineral adequada pode ter papel importante para assegurar a gestação e o nascimento de um bezerro sadio. O estresse oxidativo e as interações entre minerais serão abordadas em seguida.

---

<sup>1</sup> Feto é um mamífero jovem dentro do útero materno desde o término visível da organogênese até o nascimento. O embrião é descrito como a fase do mamífero em desenvolvimento no qual órgãos e sistemas orgânicos característicos estão sendo formados (Duffus et al., 2007). De maneira geral, considera-se o final da fase embrionária do bovino aos 45 dias depois da fertilização (Lawrence & Fowler, 1997).

Nesta revisão, que tem por objetivo destacar a importância dos minerais na reprodução de bovinos, procurou-se avançar na discussão do papel de minerais específicos sobre processos reprodutivos, lembrando a possibilidade de extrapolações às vezes inadequadas, dadas as lacunas nas informações obtidas diretamente em bovinos, ou mesmo em outros ruminantes. Devido à maior quantidade de estudos, preferiu-se dar ênfase ao papel dos minerais na fisiologia da reprodução das matrizes bovinas.

## 2. O estresse oxidativo

A oxidação é parte normal do metabolismo. Por um lado, a função e a viabilidade celular, bem como a integridade estrutural e funcional de órgãos, dependem do fornecimento constante de oxigênio e de glicose. Grande parte do ATP (trifosfato de adenosina, principal transportador de energia química das células) gerado na fosforilação oxidativa é usada para manter o equilíbrio iônico e o potencial de membrana. Qualquer perturbação na disponibilidade de oxigênio pode resultar em perda de funções orgânicas, pela redução do aporte de energia às células. Por outro lado, a presença de oxigênio traz o risco de dano celular causado pelo acúmulo de espécies reativas de oxigênio, capazes de oxidar macromoléculas durante o estresse oxidativo. Um sistema complexo de monitoramento do oxigênio celular evoluiu para assegurar a regulação precisa do equilíbrio de oxigênio, o que evita o comprometimento metabólico e diminui o risco de estresse oxidativo (Acker, 2005).

Radicais livres são compostos químicos que possuem elétrons não pareados, geralmente muito reativos, que tendem a produzir reações em cadeia. Existem dois tipos principais de radical livre: as espécies reativas de oxigênio (ROS) e as espécies reativas de nitrogênio (NOS). Os três tipos principais de ROS são o superóxido ( $O_2^-$ ), o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e a hidroxila ( $OH^\cdot$ ). O superóxido pode se originar quando o  $O_2$



produzido na cadeia de transporte de elétrons receber somente um elétron (Lehninger, 1984; Agarwal et al., 2005). Esses agentes oxidantes são formados na cadeia de transporte de elétrons da mitocôndria, na síntese de prostaglandinas (via das cicloxigenases) e por enzimas celulares como citocromo-P450-oxidase, xantina-oxidase e oxidase da nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADPH-oxidase; Janssen et al., 1993). A presença de ferro e de outros íons divalentes pode converter o  $\text{H}_2\text{O}_2$  no radical  $\text{OH}^\cdot$ , um agente oxidante muito reativo, por meio da reação de Fenton ( $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \cdot\text{OH} + \text{OH}^-$ ). A importância da reação de Fenton sob condições fisiológicas normais não está clara (Valko et al., 2007). Óxido nítrico (NO) é produzido por três tipos de sintases do óxido nítrico – uma endotelial, uma neuronal e uma induzível, presente nos fagócitos mononucleares (macrófagos e monócitos); estes três tipos estão ligados à resposta imunológica (Agarwal et al., 2005).

Embora os radicais livres sejam frequentemente associados às patologias, especialmente quando em excesso, eles exercem funções fisiológicas essenciais, ilustradas pelo papel das NADP-oxidases. A família das NADP-oxidases, caracterizada pela capacidade de transportar elétrons através da membrana plasmática e de gerar ROS, inclui dentre suas funções a defesa do hospedeiro, o processamento pós-tradução de proteínas, a sinalização celular, a regulação da expressão genética e a diferenciação celular. A deficiência de NADP-oxidases pode levar à imunodepressão e ao hipotireoidismo (Bedard & Krause, 2007).

O delicado equilíbrio entre a produção de radicais livres e seu controle por antioxidantes é determinante no desenvolvimento de órgãos e de tecidos. Cada célula é caracterizada por uma concentração característica de elétrons nos seus vários compartimentos (estado redox). O estado redox da célula e suas flutuações determinam o funcionamento celular. O aumento controlado de radicais livres (ROS/NOS) leva ao desequilíbrio temporário, que é a base da regulação redox. De modo geral, ambientes celulares mais reduzidos (a redução

implica ganho de elétrons), mantidos por concentrações mais elevadas de antioxidantes, estimulam a proliferação celular; um desvio leve, que conduza a um ambiente moderadamente oxidativo, inicia a diferenciação celular. Quando o ambiente celular se torna ainda mais oxidante, pode levar à morte celular programada (apoptose) e à necrose, quando o estímulo oxidativo for muito intenso. A apoptose é necessária para o desenvolvimento normal e para a destruição de células que representam ameaça à integridade do organismo (Valko et al., 2007). As ROS estão associadas à modulação fisiológica de funções reprodutivas (por exemplo, a maturação do ovócito, a esteroidogênese ovariana e a luteólise), bem como às patologias da reprodução (Agarwal et al., 2005).

Doenças e disfunções orgânicas podem estar relacionadas ao estresse oxidativo, cuja ocorrência é comum nas deficiências de microelementos. O estresse oxidativo aparece como consequência da produção excessiva de radicais livres e/ou da diminuição dos mecanismos de defesa antioxidantes. Os radicais livres reagem com todos os componentes celulares: proteínas, lipídios, açúcares e ácidos nucleicos. As alterações de componentes celulares incluem a peroxidação de lipídios e a quebra de ácidos graxos; a peroxidação de proteínas, acompanhada da modificação na sua conformação, e a inativação de enzimas e de canais de íons; a quebra das cadeias protéicas e a liberação de aminoácidos; a alteração de aminoácidos; a inativação e a mutação do DNA; e a destruição de vitaminas e outros componentes do sistema de defesa antioxidante (Agarwal et al., 2005; Aourousseau et al., 2006). O dano ao DNA pode resultar em parada ou em indução da transcrição, em indução de vias de sinalização da transcrição, em erros de replicação e em instabilidade genômica (Valko et al., 2007).

Os agentes oxidantes ativam ou inativam proteínas. Essas interações produzem sinais, que incluem a ativação de fatores de regulação genética (fatores de transcrição). Estes fatores, por sua vez ativam genes de resposta ao estresse oxidativo. Dessa forma, muitas proteínas são produzidas, com

funções distintas, incluindo enzimas de reparo do DNA, antioxidantes, proteases e inibidores de proteases, citocinas e proteínas que afetam a proliferação celular (Janssen et al., 1993). O estado redox da mitocôndria, por exemplo, regula a transcrição da superóxido-dismutase dependente de zinco, uma enzima que ajuda a proteger a célula do estresse oxidativo (Aurousseau et al., 2006). Essas respostas da célula aos agentes oxidantes podem levar à restauração da função celular normal e à adaptação ao estresse oxidativo ou à proliferação desordenada ou à morte celular. São as duas últimas respostas que estão associadas a doenças (Janssen et al., 1993).

Existe nas células um sistema de defesa para evitar o excesso de ROS, o qual combina componentes enzimáticos e componentes não-enzimáticos. Os microelementos minerais desempenham papel fundamental na regulação do potencial redox e na defesa contra o estresse oxidativo. Os tecidos dos mamíferos contêm três formas da metaloenzima superóxido-dismutase, duas que contêm cobre e zinco e uma terceira que contém manganês. A superóxido-dismutase converte superóxido em peróxido de hidrogênio; a catalase, uma metaloenzima que contém ferro, converte o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio molecular. A atividade das superóxido-dismutases e outras enzimas antioxidantes, incluindo a catalase e a glutathione-peroxidase (contém selênio), são completadas por uma série de fatores não-enzimáticos intracelulares e extracelulares. Moléculas que contêm o grupo sulfidril, como glutathione, vitaminas C e E, albumina, ceruloplasmina (contém cobre), bilirrubina e ácido úrico, são componentes dos sistemas antioxidantes não-enzimáticos. Além dessas, metalotioneína e heme-oxidase aparecem depois da exposição ao estresse oxidativo e têm funções antioxidantes (Lehninger, 1984; Janssen et al., 1993; Agarwal et al., 2003, 2005). A geração de radicais livres aumenta na gestação, no estresse, nas infecções, nas intoxicações e em consequência de danos aos tecidos. Dietas de alta densidade calórica, bastante usadas para vacas leiteiras, também aumentam a produção de radicais livres (Agarwal et al., 2003, 2005).

## 2.1 O estresse oxidativo na reprodução de fêmeas bovinas

A gestação é um período de grande suscetibilidade ao estresse oxidativo. Caracteriza-se por mudanças dinâmicas em vários sistemas do organismo, que resultam em maior consumo basal de oxigênio e em mudanças no uso do substrato energético por diferentes órgãos, incluindo a unidade feto-placentária. Desde o início, a placenta influencia a homeostase materna. À medida que a placenta se desenvolve e se vasculariza, ela se torna um ambiente rico em oxigênio. O estresse oxidativo pode resultar em injúria celular ou em disfunção orgânica, quando espécies de oxigênio reativo se acumulam (Robinson et al., 1983). A placenta é também rica em macrófagos, que favorecem a produção local de radicais livres. A resposta imunológica é geralmente reduzida na gestação, possivelmente como consequência de altos níveis de estrógenos. Macrófagos, na presença de infecção, são fonte de ácido nítrico, de fator de necrose tumoral alfa (*tumor necrosis factor alpha* – TNF- $\alpha$ ), e de outras citocinas que induzem alterações na mitocôndria e produzem radicais livres. O estresse oxidativo pode influenciar o desenvolvimento inicial do embrião, mediante modificação de fatores-chave de transcrição, e assim da expressão genética. Pode ocasionar também danos celulares que causarão distúrbios no embrião ou no feto, aumentando o aparecimento de anomalias. Até mesmo em seres humanos existe pouca informação disponível sobre a proteção do embrião ou do feto em relação aos compostos oxidantes gerados na placenta, especialmente pelo efeito potencial durante a organogênese. Crianças de mães diabéticas têm maior proporção de anomalias, que foram atribuídas ao estresse oxidativo e à oxidação mitocondrial, entre outros fatores; essas anomalias causam deficiência de ácidos graxos essenciais, por peroxidação e por alterações na prostaglandina, entre outras (Robinson et al., 1983; Santos et al., 2001; Agarwal et al., 2005).

No Brasil, são poucos os estudos que enfocam os efeitos de ROS sobre embriões bovinos; entretanto, percebe-se a enorme preocupação em dirimir estes efeitos, visando à maior produção de embriões por fecundação *in vitro* (Silva, 2006).

## **2.2 O estresse oxidativo e a redução na fertilidade de machos**

As espécies reativas de oxigênio geradas no metabolismo celular normal são necessárias, em pequenas quantidades, para a capacitação dos espermatozóides. Já o estresse oxidativo prejudica a fluidez da membrana plasmática do espermatozóide e a integridade do DNA no núcleo. Quando a espermatogênese é prejudicada, o mecanismo de maturação do espermatozóide e de extrusão citoplasmática é defeituoso e libera o espermatozóide com excesso de citoplasma residual. Nessas circunstâncias, o espermatozóide liberado na espermição é imaturo e apresenta defeitos funcionais. A retenção do citoplasma residual foi correlacionada com a geração de ROS, o que leva à redução da qualidade espermática. Uma teoria aventada foi de que o espermatozóide maduro seria mais exposto ao estresse oxidativo pela produção de ROS do espermatozóide imaturo durante a migração conjunta desde os túbulos seminíferos até o epidídimo (Agarwal et al., 2003).

Os espermatozóides são especialmente sensíveis aos danos induzidos pelo estresse oxidativo, porque suas membranas contêm grandes quantidades de ácidos graxos polinsaturados e seu citoplasma contém baixa concentração de enzimas antioxidantes. Os espermatozóides não conseguem reparar os danos provocados pelo excesso de ROS. O aumento na peroxidação lipídica da membrana plasmática do espermatozóide foi relacionado à queda da motilidade e da capacidade de fusão de espermatozóide e ovócito (Agarwal et al., 2003). Kasimanickam et al. (2007) mostraram que touros com menor peroxidação lipídica do esperma tinham maior probabilidade de gerar bezerras, por não estarem sujeitos aos efeitos deletérios da peroxidação lipídica na integridade da membrana plasmática e na fragmentação do DNA dos espermatozóides. Altas taxas de dano

ao DNA foram associadas ao prejuízo no desenvolvimento do embrião antes da implantação, à falha na implantação e ao aumento nas taxas de morte embrionária precoce.

O elo entre a produção de ROS e a redução da motilidade do espermatozóide pode ser a cascata de eventos que resulta na diminuição da fosforilação de proteína no axonema e na imobilização do espermatozóide, ambas associadas com a redução da fluidez da membrana necessária para a fusão de espermatozóide e ovócito. Outra hipótese seria de que a inibição da glicose-6-fosfato-desidrogenase por  $H_2O_2$  levaria à redução da disponibilidade de NADPH para a produção de ROS, o que acarreta concomitante diminuição das defesas antioxidantes do espermatozóide, e à peroxidação da membrana fosfolipídica (Agarwal et al., 2003).

O DNA espermático é protegido do dano oxidativo pela condensação do DNA e pelos antioxidantes existentes no plasma seminal. O dano induzido ao DNA pelo estresse oxidativo pode acelerar a apoptose e levar ao declínio na contagem espermática, com conseqüentes deterioração da qualidade do sêmen e queda na fertilidade. A apoptose também pode ser induzida pela ativação das caspases, com a liberação do citocromo C da mitocôndria em função dos danos causados por níveis altos de ROS às membranas mitocondriais (Agarwal et al., 2003).

O detalhamento da participação dos minerais na modulação dos processos mencionados será retomado mais adiante.

### **3. Importância dos minerais na fisiologia da reprodução de matrizes**

#### **3.1 Ciclo estral e concepção**

A apresentação de ciclos estrais regulares é um indicativo de normalidade na atividade reprodutiva, e reflete o balanço hormonal correto e a produção regular de gametas femininos. A manifestação do estro, por sua vez, assinala o momento propício para a monta e favorece a presença do

gameta masculino no trato genital feminino para que haja possibilidade de fecundação. O controle da reprodução depende de estímulos orquestrados no sistema nervoso central. O hipotálamo produz o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), cuja ação é um sinal para a hipófise anterior liberar o hormônio folículo-estimulante (FSH) e o hormônio luteinizante (LH). Esses hormônios<sup>1</sup> estimulam a síntese de esteróides, progesterona e estradiol<sup>1</sup>, nos ovários. Estes hormônios por sua vez controlam a secreção de FSH e de LH, num mecanismo de *feedback* (retroalimentação). Os hormônios gonadotróficos (FSH e LH) estimulam também a gametogênese. O nível de estradiol se eleva antes da ovulação e esse aumento é responsável pela liberação de LH, a qual leva à ovulação; o aumento de estradiol também é importante para a manifestação do estro (Dode, 2002). Como será visto adiante, minerais participam da regulação desses processos.

Após a ovulação, o ovócito maduro vai para a cavidade abdominal, onde é capturado pelas fímbrias do oviduto e conduzido até a ampola, para fecundação. O ovócito é viável por oito a dez horas. O espermatozóide deve alcançar o istmo do oviduto, onde permanece até que tenha condições de fecundar o ovócito. Para que o espermatozóide tenha capacidade fecundante, precisa sofrer modificações funcionais durante a exposição às secreções do trato reprodutor feminino. Este processo é denominado de capacitação. O espermatozóide, ao encontrar o ovócito, deve atravessar as camadas de células que o recobrem, ligando-se à zona pelúcida na superfície do ovócito. Ao ultrapassar a zona pelúcida e o espaço perivitelínico, o espermatozóide se fixa à membrana do ovócito e se incorpora ao ooplasma, ativando o ovócito. Há então formação do pronúcleo masculino e do pronúcleo

---

<sup>1</sup> Estradiol é um estrógeno, hormônio esteróide, produzido nos ovários e outros tecidos. O LH estimula a secreção de testosterona, e a testosterona (sob ação da aromatase) origina estradiol por influência do estímulo do FSH. Dois outros estrógenos são produzidos a partir do estradiol: estrona (pela oxidação do estradiol) e estriol (pela hidratação da estrona) (Hadley, 1992).

feminino, que se fundem para formar um novo indivíduo. O ovócito fecundado deve ser transportado para o útero, num processo que depende de hormônios, como o estradiol e a progesterona (Dode, 2002; Rhodes III, s/d).

Falhas na fecundação podem advir de vários fatores, tais como problemas nos gametas (não viabilidade ou envelhecimento dos gametas) e ação de fatores genéticos (anomalias cromossômicas) ou ambientais (Dode, 2002).

### **3.2 Gestação e parição**

Há evidência crescente de que muitos defeitos no desenvolvimento embrionário ou fetal podem ser causados por aporte deficiente de nutrientes, tais como cobre, iodo, ferro, magnésio e zinco (Keen et al., 1998). Apesar de alguns efeitos da nutrição serem devidos à ação direta de nutrientes, outros efeitos parecem ser mediados indiretamente por hormônios dos quais participam. Deficiências minerais podem alterar o desenvolvimento de tecidos fetais específicos durante períodos críticos de desenvolvimento, ou podem levar a efeitos duradouros na secreção de hormônios ou na sensibilidade de tecidos aos hormônios (Godfrey & Barker, 2000), como será discutido adiante.

Alterações na nutrição fetal e nos níveis hormonais resultam em adaptações do desenvolvimento fetal que visam garantir a sobrevivência no curto prazo, mas mudam permanentemente estruturas, fisiologia e metabolismo, o que pode trazer conseqüências negativas no médio ou no longo prazo. A taxa de crescimento fetal parece ser estabelecida precocemente: alterações durante a época de concepção na dieta materna e na concentração plasmática de progesterona podem mudar a expressão genética na fase de pré-implantação do embrião, e definir o ritmo de desenvolvimento. A taxa de crescimento parece acelerar com melhor nutrição peri-concepção (Godfrey & Barker, 2000).



Estudos têm evidenciado que a nutrição durante a vida intra-uterina pode afetar a formação e o desenvolvimento não só da própria cria, mas de sua progênie (Godfrey & Barker, 2000). Fatores ambientais podem causar efeitos duradouros no fenótipo. A nutrição da mãe pode alterar a programação dos genes fetais. A deficiência de zinco foi associada ao incremento de danos ao DNA, que podem resultar em perda de metilação, passível de ser transferida para a prole. A metilação do DNA geralmente provoca repressão da transcrição. Assim, a deficiência marginal de zinco na gestação pode ter efeitos deletérios permanentes na resposta imunológica. Observaram-se danos que passavam por duas gerações, não sendo possível revertê-los pela ingestão subsequente de concentração adequada de zinco. Modificações epigenéticas<sup>1</sup> do DNA, tais como a metilação, são importantes para a regulação da função do genoma, tanto na fase inicial de desenvolvimento como no indivíduo adulto (Reik & Dean, 2001; Keen et al., 2003b).

### **3.2.1 Início da gestação: reconhecimento materno da gestação e morte embrionária**

Considera-se que as taxas de concepção, determinadas por embriões clivados no oviduto, são altas nos animais domésticos (90% a 95% – Hostetler et al., 2003). A morte embrionária causa impacto importante sobre a taxa de fertilidade dos animais domésticos e é estimada em 20% a 40% em vacas. A maior parte das perdas embrionárias ocorre nos primeiros dias depois da fertilização e durante o processo de implantação (Vanroose et al., 2000). A implantação é um processo dinâmico, em que o endométrio materno e as células do trofoblasto do feto interagem de modo a permitir o desenvolvimento da placenta por meio da remodelação do endométrio. Em bovinos esse processo é pouco invasivo (MacIntyre et al., 2002).

---

<sup>1</sup> O termo epigenético refere-se às causas não-genéticas do fenótipo (Zaid et al., 1999)

A morte embrionária pode ser causada por erros de meiose – se a primeira ou a segunda divisão meiótica no ovócito for disfuncional, a meiose pode resultar em anomalias na segregação de cromossomos (Krey et al., 2001; Magli et al., 2006) – ou de fecundação e por efeitos nutricionais adversos, como excesso ou deficiência de nutrientes específicos e presença de compostos tóxicos. Muitas vezes o embrião é normal, mas o ambiente materno é incapaz de lhe dar as condições adequadas, em decorrência de problemas no trato reprodutivo ou de níveis hormonais inadequados. A prenhez depende de concentrações específicas de progesterona e de estrógeno e as perdas embrionárias podem ser decorrentes de concentrações inadequadas desses hormônios (Dode, 2002). Alguns minerais influenciam diretamente a produção hormonal: a síntese de progesterona, necessária pelo menos durante o terço inicial da gestação na maioria dos mamíferos (Hafez, 1982), pode ser afetada por cálcio (Ca), zinco e manganês. Baixas concentrações plasmáticas de progesterona podem causar desenvolvimento folicular aberrante, que leva à maturação anormal do ovócito no folículo ovulatório e à morte embrionária, afetam a esteroidogênese no folículo dominante e no corpo lúteo formado subsequente e alteram também a morfologia e a função do endométrio no ciclo subsequente (Ferreira, 1993).

Os bovinos têm um período prolongado de pré-implantação, caracterizado por migração do embrião, secreção glandular endometrial, e geração do sinal do embrião e das membranas fetais para reconhecimento da gestação (Bowen & Burghardt, 2000). Depois da fertilização, o zigoto divide-se várias vezes sem aumento de tamanho significativo. O embrião de 16 células entra no útero de três a quatro dias após a fecundação, transportado por movimentos peristálticos controlados pelo balanço de estrógeno e de progesterona. Quando o embrião tem de 16 a 32 células, se compacta, formando a mórula. Começa então a haver formação de uma cavidade no embrião, a blastocèle, que caracteriza a fase de blastocisto. A blastocèle aumenta de tamanho, até a ruptura da

zona pelúcida, e o embrião então entra em contato com o útero, por volta dos 18 dias após a fecundação (Holm et al., 1998; Dode, 2002; Rhodes III, s/d).

O aumento pós-ovulatório da progesterona é particularmente importante, porque mantém a sincronia entre o embrião e o útero, essencial para o estabelecimento da gestação (Marston et al., 1995). A programação do desenvolvimento pode ter profundas consequências sobre o crescimento de órgãos vitais e o peso ao nascer de animais domésticos. A assincronia resulta numa série de complicações, incluindo falha na implantação do embrião, mortalidade embrionária precoce, e crescimento e desenvolvimento retardado ou acelerado. Postula-se que a progesterona seja responsável pela aceleração do desenvolvimento embrionário, por meio do aumento do transporte de fatores de crescimento para o lúmen uterino ou pelo estímulo direto da liberação de fatores de crescimento no endométrio (Barnes, 2000). Enquanto o embrião se divide, o útero é preparado pela progesterona para a implantação (Marston et al., 1995). A progesterona diminui o tônus muscular do útero e aumenta a capacidade secretória do endométrio que recobre o lúmen uterino. O endométrio fornece nutrientes ao embrião não-implantado durante a fase de blastocisto (Rhodes III, s/d). Vários estudos mostraram a relação entre baixos níveis de progesterona na vaca e falha precoce na gestação (Marston et al., 1995).

Para o estabelecimento da gestação, o embrião precisa sinalizar sua presença na chegada ao útero, processo conhecido por reconhecimento da gestação (Bowen & Burghardt, 2000). A mãe reconhece a gestação cerca de 15 a 17 dias depois da fecundação (Hostetler et al., 2003). O reconhecimento materno da gestação é um período crítico para o embrião. Na fêmea gestante, o sinal para o reconhecimento da gestação resulta na manutenção do corpo lúteo, de modo que a secreção de progesterona continua e mantém o ambiente uterino em condições favoráveis para dar suporte ao crescimento e ao desenvolvimento do embrião. Nos bovinos, o sinal molecular

responsável pela manutenção do corpo lúteo é dado pelo interferon-t, uma citocina (Meyer et al., 1995). O interferon-t é produzido pelo embrião e pelo tecido placentário, e interfere na ação da oxitocina, evitando a produção de prostaglandina F2a (PGF2a) pelas células endometriais do útero. A PGF2a é responsável pela redução da produção de progesterona pelo corpo lúteo ao desencadear a luteólise.

Diversamente de roedores e de primatas, nos bovinos não há nidação dos embriões no útero. A ligação do embrião à parede uterina é superficial, consistindo na ligação das células que recobrem o lúmen uterino – o endométrio –, e as camadas mais externas do embrião – a membrana córion-alantóide. A placenta consiste na fusão das membranas embrionárias e do endométrio uterino (Bowen & Burghardt, 2000). As interações moleculares envolvidas na aposição e na ligação do embrião e das suas membranas ao endométrio uterino que ocorrem durante a implantação envolvem uma cascata de eventos. As alterações induzidas pela progesterona são responsáveis pela perda da mucina (glicoproteína anti-adesiva) da superfície do endométrio e pela redução na polaridade da célula uterina; essas alterações expõem as moléculas de adesão e/ou aumentam sua expressão, mediando a transição do estágio pré-receptivo (quando o blastocisto se move livremente pelo útero) para o receptivo. A receptividade uterina é programada para ocorrer com o desenvolvimento do embrião e dos seus anexos, e resulta da expressão ou da exposição de moléculas de adesão (como as integrinas). As integrinas do epitélio uterino se ligam à fibronectina, à vitronectina e/ou à osteopontina, todas expressas no final da fase de implantação do embrião (Bowen & Burghardt, 2000). A adesão celular tem papel importante na embriogênese, e no crescimento e na diferenciação celular, entre outros. As mudanças nas propriedades adesivas das células e dos tecidos são precisamente reguladas pelo potencial redox (Valko et al., 2007).

A implantação do embrião acontece num momento em que a produção de espécies reativas de oxigênio na parede uterina e no embrião é elevada, causando uma série de eventos

provavelmente relacionados ao aumento da peroxidação lipídica necessários para a gestação normal. Nessa fase, observou-se aumento na degradação da matriz extracelular, aumento na fluidez das membranas e fusão entre as células da superfície do endotélio com as células do embrião. O fator de crescimento vascular do endotélio leva à produção de ROS como mensageiro secundário na indução da angiogênese. Muitas dessas observações foram obtidas em outras espécies animais, mas Aurousseau et al. (2006) acreditam que processos celulares semelhantes devem ocorrer em bovinos.

Observa-se nesses processos como a modulação do potencial redox é fundamental para os eventos ligados à gestação, devido à sua interação com sinais extracelulares (tais como citocinas, fatores de crescimento e hormônios) e à ativação e à expressão de proteínas. A maioria dos tipos celulares produz pequena explosão oxidativa, que gera baixas concentrações de ROS quando estimulados por esses sinalizadores extracelulares. Esses sinais são enviados para o núcleo pelos fatores de transcrição, onde se ligam a seqüências específicas de DNA, regulando assim a atividade da DNA-polimerase II. As células são capazes de gerar ROS que são utilizadas na indução e na manutenção da via de transmissão de sinais envolvida no crescimento e na diferenciação celular (Valko et al., 2007).

### **3.2.2 Desenvolvimento embrionário e fetal**

Os microelementos cobre, iodo, ferro, manganês, selênio e zinco influenciam o crescimento e o desenvolvimento do embrião, do feto e dos anexos. Concentrações inadequadas desses elementos nos tecidos podem contribuir para aumentar a incidência de morte embrionária precoce nos animais domésticos (Hostetler et al., 2003). A transferência inadequada de minerais essenciais da mãe para o feto resulta em deficiência desses nutrientes no feto, causando danos ao crescimento e anomalias no metabolismo, no sistema nervoso central e nos ossos. Além disso, crias nascidas de matrizes que consumiram

quantidade insuficiente de minerais durante a gestação têm baixas reservas corporais e são susceptíveis a deficiências precocemente (Hostetler et al., 2003).

Apesar de as deficiências nutricionais maternas serem geralmente consequência da ingestão de quantidades insuficientes de nutrientes, as deficiências nutricionais no embrião, no feto e nos seus anexos podem ocorrer por uma série de mecanismos diferentes. Além das deficiências primárias, deficiências nutricionais secundárias no embrião e no feto podem ser causadas por influência genética (mutações e polimorfismos genéticos, defeitos genéticos múltiplos, variabilidade genética natural), interações nutricionais (formação de complexos insolúveis e competição entre componentes da dieta), doença materna (influência sobre o metabolismo de minerais) e intoxicação (complexação de minerais ou danos aos tecidos renais e ao trato gastrointestinal, reduzindo a absorção ou aumentando a excreção). Vários fatores (incluindo drogas e substâncias tóxicas, estímulo físico e várias doenças) agem como estressores fisiológicos, que podem desencadear inflamação ou resposta de fase aguda na mãe. Todos esses fatores podem aumentar bastante a ocorrência de defeitos congênitos (Keen et al., 2003a).

A condição nutricional da mãe pode modular a resposta aos desafios ambientais. A intoxicação provocada por alguns agentes pode ser amplificada em fêmeas já atingidas por deficiência leve de minerais (Keen et al., 2003a). Substâncias tóxicas podem influenciar indiretamente o metabolismo do zinco, por exemplo, pela redução da absorção depois de dano ao trato gastrointestinal, pelo aumento na excreção renal causada por dano ao rim ou pelo aumento da diurese e pela influência sobre seu metabolismo depois de danos ao tecido. Neste último caso, a indução da resposta de fase aguda pode contribuir para a toxidez causada por uma série de agentes, incluindo infecções. Um agente intoxicante que induz lesão nos tecidos da mãe está associado com o aumento transitório na produção de citocinas de inflamação, como o fator da necrose tumoral, a interleucina 1 e a interleucina 6. Citocinas como o

TNF- $\alpha$  podem desencadear muitas mudanças metabólicas, febre, choque, hipotensão e injúria ao tecido. Ao conjunto de respostas bioquímicas e fisiológicas dá-se o nome de resposta de fase aguda. Essa resposta pode durar meses. Um efeito do TNF- $\alpha$  é estimular a produção de metalotioneína, uma proteína à qual se ligam o zinco e outros metais divalentes. O aumento de metalotioneína pode resultar em seqüestro do zinco circulante do plasma, diminuindo o transporte de zinco para o embrião e para o feto e seus anexos. O efeito deletério de agentes que induzem o aumento da metalotioneína sobre o desenvolvimento fetal pode ser reduzido significativamente pelo aumento na ingestão materna de zinco (Keen et al., 2003a).

A nutrição inadequada na fase pré-natal pode provocar disfunções bioquímicas, que se mantém mesmo após a correção da inadequação e persistem na vida adulta (Keen et al., 2003a). Por exemplo, roedores cujas mães receberam dietas com baixa razão proteína:energia na gestação mostraram balanço permanentemente alterado na produção e na utilização da glicose pelo fígado.

### 3.2.3 Partição

A eliminação da placenta na vaca ocorre normalmente dentro de seis horas após o parto, depois de um processo de maturação que envolve mudanças hormonais e estruturais, que não são ainda plenamente compreendidas. A liberação da placenta pós-parto é um processo fisiológico, que envolve a perda da aderência materno-fetal, associada a contrações uterinas que expõem fisicamente a placenta. A motilidade uterina é importante e a redução pós-parto da irrigação dos vilos contribui para o encolhimento deles, mas o fator chave na expulsão da placenta é a redução da ligação entre os vilos maternos e os fetais. A placenta pode ser retida devido a três mecanismos: disfunção do miométrio, retenção da ligação materno-fetal e obstrução mecânica, esta mais rara (Laven & Peters, 1996).

A retenção de placenta pode reduzir a fertilidade e está relacionada à diminuição da taxa de gestação ao primeiro serviço, ao incremento no número de serviços por concepção e, portanto, ao maior intervalo de partos. Há associação estreita entre retenção de placenta e desenvolvimento de metrite; esta é 19 vezes maior quando há retenção de placenta do que depois de partição normal. Apesar disso tudo, há divergências sobre o efeito global da retenção de placenta sobre a fertilidade. Muitos fatores estão implicados na retenção de placenta: raça, altas temperaturas, gestações mais longas ou mais curtas, indução da partição, distocia, hipocalcemia, idade, aborto e deficiências de selênio, de vitamina E, de vitamina A, de magnésio, de cobre, de iodo, de zinco e de ferro (Laven & Peters, 1996). Kankofer (2000) sustentou que a retenção de placenta pode estar associada ao estresse oxidativo, mas não há comprovação dessa teoria, embora vários estudos tenham mostrado redução na incidência da retenção de placenta pela suplementação da dieta de vacas com selênio (Wilde, 2006).

#### **4. O papel individual de minerais na reprodução de matrizes bovinas**

De modo geral, todos os minerais essenciais são necessários para a reprodução, devido aos seus papéis no metabolismo, na manutenção e no crescimento. Entretanto, esses nutrientes têm também papéis e exigências específicos nos tecidos reprodutivos. A função ou a necessidade de determinado elemento em um tipo de célula ou tecido pode se modificar, dependendo da fase do ciclo reprodutivo ou da gestação. Deficiências nutricionais marginais podem se manifestar por fertilidade reduzida antes de outros sinais clínicos aparecerem. Bezerros podem nascer com defeitos relacionados ao aporte inadequado de um nutriente sem que a matriz tenha chegado a exibir deficiência clínica. A função ótima de tecidos reprodutivos pode ser limitada por deficiências nutricionais em períodos críticos, incluindo puberdade, parto e



pico de lactação (Hurley & Doane, 1989; Hansen, 2005). Na mesma linha de raciocínio, Kendall et al. (2000) argumentaram que carneiros têm alta exigência nutricional para a produção de sêmen durante a estação de monta, o que poderia levar a deficiências localizadas de microelementos, resultando em decréscimo da produção e da qualidade do sêmen. Eles mostraram que a qualidade do sêmen de carneiros considerados normais foi beneficiada (maior motilidade, maior proporção de espermatozóides vivos e maior proporção de membranas intactas) com a suplementação de microelementos, destacando o aumento na atividade da glutathione-peroxidase.

Para avançar no entendimento das deficiências minerais sobre a reprodução, é primordial buscar os mecanismos específicos que provocam os efeitos observados no animal – anestro, ciclos irregulares, abortos, baixa taxa de concepção. Há uma variedade de experimentos de campo que, avaliados juntos, mostram resultados e evidências conflitantes (Hostetler et al., 2003). Os mecanismos celulares e subcelulares pelos quais os minerais atuam são bastante estudados, mas geralmente são utilizados roedores como modelo, sem a validação desses efeitos nos animais domésticos. Em alguns casos, os resultados não podem ser aplicados diretamente nos bovinos. Citam-se os exemplos do selênio, cuja deficiência é caracterizada por degeneração da musculatura esquelética em ruminantes, mas não no rato, e a interação entre selênio e iodo, observada no rato, mas talvez sem importância prática no ruminante. Ao estudar os efeitos desses nutrientes em nível celular, são possíveis manipulações na dieta, visando abranger os processos fisiológicos com maior potencial de resposta produtiva, tais como o período de reconhecimento da gestação e o início do desenvolvimento fetal, de modo a levar a recomendações nutricionais definidas para atender às necessidades dessa fase (Wichtel, 2003).

## 4.1 Cálcio

Muitos processos intracelulares dependem da ação de regulação do cálcio, incluindo a produção de mensageiros, a regulação de genes, a conformação do citoesqueleto, a plasticidade, a modulação do canal iônico, o balanço da atividade de quinases e de fosfatases e a ativação enzimática. Qualquer alteração substancial na concentração intracelular de cálcio deve desencadear importantes efeitos funcionais (Egelman & Montague, 1999). O cálcio interage com seu próprio receptor celular, uma proteína regulatória chamada calmodulina. A interação entre o cálcio e a calmodulina gera mudanças de conformação no complexo, que parecem ser necessárias para a interação da calmodulina com o substrato.

As três principais funções da calmodulina ativada são a regulação dos níveis intracelulares de cálcio, a ativação enzimática e o controle da ativação de organelas filamentosas celulares. A calmodulina estimula a adenilato-ciclase e a fosfodiesterase e dessa forma controla a função do monofosfato cíclico de adenosina – AMPc (Hadley, 1992).

A elevação da concentração intracelular de cálcio promove a ativação da calmodulina e assim leva à indução da esteroidogênese (Niitsu, 1992). Mecanismos dependentes de cálcio estão envolvidos na síntese de esteróides nos testículos, nas glândulas adrenais e nos ovários. Um mecanismo dependente de Ca pode ser responsável pela principal via de esteroidogênese na placenta bovina. O cálcio pode também influenciar a esteroidogênese na liberação ou na utilização de colesterol pelas mitocôndrias ou estimular a conversão de pregnenolona em progesterona (Hurley & Doane, 1989). Hall & Almahbobi (1997) propuseram um mecanismo em que  $\text{Ca}^{++}$ -calmodulina-quinase promoveria o transporte de colesterol à mitocôndria, por meio de processos que envolveriam alterações do citoesqueleto. O colesterol pode ficar armazenado em gotículas no citoplasma; estas gotículas, assim como as mitocôndrias, estão acopladas a filamentos intermediários

rígidos, que os mantêm apartados. Para que gotículas e filamentos entrem em contato e o colesterol possa seguir a via esteroidogênica, precisa haver ruptura desses filamentos e aproximação entre as estruturas. A  $\text{Ca}^{++}$ -calmodulina-quinase parece participar do processo de fosforilação da vimentina (proteína componente dos filamentos intermediários) e da cadeia leve de miosina. A fosforilação de vimentina resulta em ruptura dos filamentos, enquanto a fosforilação da cadeia leve promove contração do anel de actino-miosina. Shemesh et al. (1984) obtiveram dados que apoiam a hipótese da dependência da presença de cálcio para a síntese de progesterona na placenta bovina, mas esta ocorre de maneira independente de nucleotídeos cíclicos.

O controle hipotalâmico da função reprodutiva é expresso por ações de GnRH na hipófise, mediadas por receptores. Esses receptores variam em número durante o ciclo ovariano e em função de *feedback* de esteróides, e são modulados pela taxa de secreção de GnRH. Os processos ativados por receptores que conduzem à secreção de gonadotrofinas são altamente dependentes de cálcio e são iniciados pela rápida hidrólise de fosfolipídios, com a produção de metabólitos de ácido araquidônico (Catt et al., 1985). Além disso, a liberação de hormônio luteinizante depende da estimulação de GnRH e envolve um mecanismo controlado pelo cálcio (Hurley & Doane, 1989).

## 4.2 Fósforo

Aproximadamente 80% do fósforo do organismo encontra-se associado ao cálcio nos ossos e ambos são depositados e reabsorvidos dos ossos simultaneamente. O fósforo é essencial para os microrganismos do rúmen, para a absorção e o metabolismo da energia dos alimentos, para o controle ácido-básico, para o metabolismo de proteínas e para os sistemas enzimáticos. A deficiência de fósforo foi associada à redução da ingestão de alimento, à redução da atividade

celulolítica e da síntese de proteína por microrganismos do rúmen, a alterações do metabolismo intermediário e a problemas ósseos. O efeito primário da deficiência de fósforo em ruminantes é a redução da ingestão de alimento, da ordem de 10% a 50%. Dentre as possíveis causas aventadas, estão a menor atividade de microrganismos ruminais na promoção da utilização da fibra, a depressão na formação de proteína microbiana, a depressão no metabolismo intracelular e a baixa na taxa de metabolismo, com a redução na disponibilidade de AMPc. O metabolismo intermediário e a digestão são também afetados na deficiência de fósforo: a digestão microbiana é prejudicada com a ingestão de concentrações muito baixas de fósforo, apesar de a redução da digestibilidade *in vivo* parecer pouco significativa. Há relatos também de perturbação do metabolismo intracelular de glicose (Ternouth, 1991).

A redução na ingestão de alimento é o efeito mais precoce da deficiência de P e isso pode levar a deficiências de outros nutrientes, tais como proteína e energia. Uma consequência grave da deficiência de P é a ingestão de materiais que normalmente não participam da dieta (alotriofagia ou apetite depravado), tais como ossos, pedras e madeira, predispondo os animais ao botulismo enzoótico (Gartner et al., 1982; Conrad et al., 1985).

A deficiência de fósforo é geralmente associada a desordens reprodutivas em bovinos, mas a infertilidade devida à deficiência de fósforo geralmente ocorre depois de outros sinais clínicos. Manifestações clássicas da deficiência de fósforo envolvem alterações no estro. A deficiência de fósforo induz redução das taxas de concepção, estros irregulares, diminuição da atividade ovariana, aumento na incidência de cistos foliculares e depressão geral da fertilidade. A deficiência de fósforo afeta todos os tipos celulares, já que esse elemento é componente de ácidos nucléicos, de nucleotídeos, de fosfolípidios e de algumas proteínas. O envolvimento de P na síntese de fosfolípidios e de AMPc pode ser a chave de seu efeito na reprodução (Hurley & Doane, 1989).

### 4.3 Zinco

A deficiência de zinco aparece como uma desordem primária e pode também ser condicionada por excesso de Ca, de Cu e de Fe, por exemplo. O zinco participa do metabolismo de carboidratos, de lipídios, de proteínas e de ácidos nucléicos. O zinco atua como componente catalítico ou como estabilizador de metaloenzimas (por exemplo, Cu-Zn-superóxido-dismutase, anidrase carbônica, desidrogenase alcoólica, carboxipeptidase, fosfatase alcalina, RNA-polimerase), além de ser necessário para a estabilidade celular (Graham, 1991). O zinco é necessário para quase 300 enzimas. Tem um papel catalítico, co-catalítico e/ou estrutural na conformação de proteínas (Tapiero & Tew, 2003). A estabilização de membranas celulares, a polimerização de microtúbulos, a estrutura e/ou a função de RNA e de DNA parecem depender de zinco, além da regulação de sistemas hormonais. O zinco tem atividades regulatórias com a calmodulina, com a proteína-quinase dependente de cálcio (PKC), na formação de fosfato de inositol, na atividade da adenosina-trifosfatase transportadora de Na e de K, na atividade da fosfatase da proteína e na ligação ao hormônio tireoidiano e ao receptor do estradiol (Graham, 1991).

Os genes da maioria dos eucariontes precisam ser ativados pelos fatores de transcrição, para que sejam expressos. Uma série de fatores de transcrição foi identificada, cuja função é de auxiliar a atividade da RNA-polimerase e ativar genes específicos. Esses fatores de transcrição são proteínas que têm como característica os chamados “domínios de ligação do DNA”, entre eles os “dedos de zinco” (*zinc fingers*), que associam zinco, histidina e cisteína.

Os domínios de ligação possibilitam às proteínas o reconhecimento de pedaços do DNA e a ancoragem nas fendas entre duas fitas de DNA (Schmidt, 1994). Os dedos de zinco são essenciais para a ligação do complexo esteróide-receptor ao DNA. Os elementos responsivos aos esteróides no DNA então ativam a síntese de proteína, o que pode ser importante no início da gestação, quando o embrião e seus anexos e o útero

estão produzindo proteínas, sob a influência de esteróides gonadais, que servem de sinalizadores bioquímicos entre a mãe e o embrião (Hostetler et al., 2003).

O envolvimento de zinco em todas as fases de crescimento celular sugere que todos os tecidos podem ser afetados severamente na deficiência deste mineral. O zinco não se acumula em reservas, mas pode ser reaproveitado, em alguma extensão, quando da reabsorção óssea e do catabolismo tissular. A deficiência de zinco tem efeitos marcantes na produção animal e provoca disfunções endócrinas, particularmente do metabolismo de glicose, da atividade do hormônio de crescimento e da reprodução. A deficiência de zinco também impede a mobilização hepática de vitamina A. A susceptibilidade à deficiência de zinco é alta nos períodos de rápido crescimento e pode ser acentuada por antagonistas do zinco, por infecções crônicas e por danos a tecidos, que aceleram a perda urinária de zinco. Os sinais iniciais da deficiência de zinco são inquietação e salivação excessiva; é comum ocorrência de diarreia e anorexia em bezerros. As principais ocorrências na deficiência severa de zinco são crescimento lento, com retardamento na maturação óssea e sexual, dermatites, alopecia (na região do focinho, das orelhas e dos olhos), diarreia, perda de apetite e falha imunológica. A deficiência de zinco está associada ao comprometimento de componentes tanto celulares como humorais da resposta imunológica (Graham, 1991; O'Dell, 1996; World Health Organization, 1996).

A deficiência de zinco parece afetar concentrações hormonais em fêmeas bovinas gestantes (Graham, 1991). Ela foi relacionada a abortos, teratogênese, gestação prolongada, mumificação fetal, distocia, baixo peso ao nascer, aumento de hemorragia ao parto e redução na sobrevivência da cria. O feto precisa de zinco para seu crescimento (aumento de tamanho) e desenvolvimento (construção de estruturas e estratégias necessárias para manutenção da vida e da saúde) normais (Graham, 1991; Hostetler et al., 2003). Em roedores, até mesmo a deficiência transitória (dois a três dias) de zinco pode

ser teratogênica ou prejudicar o desenvolvimento fetal. As malformações que são induzidas refletem o período de organogênese durante o qual a dieta deficiente foi fornecida. A rapidez dos efeitos da deficiência de zinco indica que a mobilização materna de reservas de zinco não é capaz de suprir as demandas do feto e seus anexos, e também indica a rápida resposta das células às variações das concentrações celulares de zinco (Keen et al., 2003a).

A deficiência de zinco afeta o desenvolvimento embrionário e fetal por vários mecanismos, incluindo a redução da proliferação celular, da síntese de proteína e das taxas de polimerização da tubulina (componente do citoesqueleto), o aumento das taxas de dano oxidativo e da morte celular programada (apoptose) e a diminuição da ligação aos hormônios e aos fatores de transcrição que dependem das regiões que contêm dedos de zinco (Keen et al., 2003a).

A deficiência de zinco altera a estrutura e a função do citoesqueleto. O citoesqueleto interage com mensageiros secundários da ação hormonal e/ou controla a localização de moléculas de regulação e assim interfere na expressão genética. Por exemplo, a capacidade das células nervosas de transmitir estímulos da sinapse ao núcleo necessita do reposicionamento de fatores de transcrição, tal como o fator nuclear kB (NF-kB). Na deficiência de zinco, há prejuízo da polimerização da tubulina; isso inibe o transporte do NF-kB ao núcleo, o que prejudica a regulação genética dele dependente. A deficiência de zinco, ao modificar o citoesqueleto, pode afetar a proliferação, a diferenciação, a plasticidade e a sobrevivência celulares (Mackenzie et al., 2006).

As exigências de zinco para animais em reprodução são provavelmente mais altas do que em outras fases da vida, devido às demandas por esse nutriente durante o crescimento fetal, o estresse do parto e a produção de leite. A alta necessidade de zinco para o embrião e para feto se reflete, por exemplo, na alta expressão de enzimas antioxidantes, a superóxido-dismutase dependente de cobre e de zinco e a glutatona-peroxidase, que os protegem de estresse oxidativo (Hostetler et al., 2003).

O papel do zinco na proteção de membranas biológicas dos danos por radicais livres pode ser devido a vários fatores: manutenção de concentração adequada de metalotioneínas, que também seqüestram radicais livres; composição da superóxido-dismutase, da qual é constituinte essencial; proteção de tióis; e prevenção da interação de grupos químicos com ferro para formar radicais livres (Tapiero & Tew, 2003). O zinco pode antagonizar oxidações mediadas por metais de transição e é capaz de inibir processos de oxidação de proteínas. Mais do que isso, o zinco parece ter papel importante na modulação da atividade de caspases, enzimas envolvidas na apoptose (Powell, 2000).

O zinco pode modular a formação de prostaglandina *in vitro*. O ácido araquidônico é precursor de várias moléculas sinalizadoras, os eicosanóides (prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanas e leucotrienos), que agem como mensageiros e hormônios locais (Stryer, 1995). Em condições fisiológicas, pequenas quantidades de ácido araquidônico são liberadas das membranas e há competição entre cicloxigenases e acil-CoA-sintetase para a formação de prostaglandinas e aracnoil-CoA. O zinco pode aumentar a formação de prostaglandina pelo aumento na disponibilidade de ácido araquidônico para a cicloxigenase, por meio de inibição na atividade de acil-CoA-sintetase (Sakuma et al., 1999). O principal papel fisiológico das prostaglandinas, produzidas em resposta ao estímulo hormonal, é o controle da atividade da musculatura lisa, que desempenha papel importante no parto. A  $\text{PGF}_2\alpha$  liberada do endométrio pode ser o fator responsável pela regressão do corpo lúteo em espécies domésticas, que dependem do corpo lúteo para a produção de progesterona durante todo o período de gestação. A diminuição da produção de progesterona subsequente é seguida por contrações uterinas e pelo parto (Hadley, 1992).

O zinco modula também a ação de fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGFs) nas células e este pode ser um dos mecanismos pelos quais esse elemento atua no início da gestação. Os IGFs são estimulantes potentes de



proliferação celular e de diferenciação dos tecidos. Esses fatores de crescimento estão presentes em alta concentração no útero de várias espécies domésticas, no início da gestação, e podem ser importantes para a remodelação uterina durante a implantação e para o desenvolvimento fetal, bem como para o desenvolvimento das membranas anexas. O zinco parece modular a afinidade entre os IGFs e suas proteínas de ligação e os receptores, e dessa forma influencia a atividade dos fatores de crescimento (Hostetler et al., 2003). Os IGFs promovem a replicação e a diferenciação das células granulosas, em meio de cultura. Esses fatores interferem no aumento de progesterona e de estrógeno induzido por FSH e na produção de AMPc, bem como na indução de receptores de LH. Sharma & Joshi (2005) relataram o aumento das concentrações de estrógeno e de progesterona em novilhas deficientes cuja dieta era suplementada com sulfato de zinco.

#### **4.4 Cobre**

A deficiência de cobre é comum em ruminantes, tanto na forma primária como na forma condicionada por excesso de molibdênio, de enxofre, de ferro, de zinco e de cálcio (Conrad et al., 1985). A maior consequência da ingestão de níveis relativamente altos de zinco é a indução de deficiência secundária de cobre. A influência de alguns agentes teratogênicos sobre o embrião e o feto pode ser modulada pela situação materna de cobre (Keen et al., 1998): fármacos como D-penicilamina e trietilenetetramina tem a capacidade de quelatar o cobre, diminuindo sua disponibilidade para os processos metabólicos, e de provocar alterações marcantes no feto e no embrião. Se as concentrações de cobre circulante na matriz são marginais, qualquer situação que reduza mais a disponibilidade de cobre pode comprometer o feto e o embrião.

O cobre se distribui por uma variedade de tecidos, onde ocorre principalmente na forma de complexos orgânicos, muitos deles metaloproteínas, que funcionam como enzimas. As funções do cobre estão primariamente ligadas à capacidade

catabólica de enzimas, mas na deficiência dele foram também observadas alterações no metabolismo de proteínas e de lipídios. Uma variedade de sinais foi associada à deficiência de cobre em animais domésticos, tais como anemia hipocrômica, neutropenia, despigmentação de pêlos e de pele, deformidades ósseas, osteoporose, anomalias vasculares, falha cardíaca (ligado à morte súbita, em casos de deficiência severa) e diarreia. O envolvimento do cobre em muitos processos oxidativos e enzimáticos pode fazer com que a deficiência marginal desse elemento tenha conseqüências generalizadas, em vez de efeitos específicos diagnosticáveis. Assim, a deficiência de cobre influencia o metabolismo de colesterol, a maturação de proteínas do tecido conjuntivo, e o metabolismo de neuroaminas, de neuropeptídeos e de catecolaminas (Conrad et al., 1985; World Health Organization, 1996). Dentre as enzimas afetadas pela deficiência de cobre, destacam-se a amina-oxidase, a ceruloplasmina, a citocromo-oxidase, as monoxigenases, as superóxido-dismutases, a lisil-oxidase e a tirosinase (Keen et al., 1998).

Um dos defeitos funcionais mais precoces de bovinos com dieta deficiente em cobre é a falha dos mecanismos de defesa contra microrganismos. A deficiência de cobre está associada com resposta limitada aos antígenos e com susceptibilidade acentuada a infecções bacterianas. Os neutrófilos circulantes mantêm a capacidade para a fagocitose de organismos estranhos, mas a atividade microbicida (que depende da mediação de radicais livres) cai progressivamente. A perda de atividade microbicida parece estar relacionada à queda da atividade da citocromo-oxidase do neutrófilo e à falha na produção de superóxido no fagossomo (Mills, 1987; Graham, 1991).

Na deficiência de cobre é comum ocorrer morte embrionária; essa deficiência está também associada à atividade ovariana subótima, à depressão do estro, à taxa de concepção reduzida, à retenção de placenta, à dificuldade ao parto e a problemas ósseos (Graham, 1991). Não há evidências claras de que a deficiência de cobre *per se* afete a liberação ou o

armazenamento de LH induzidos pelo GnRH (Ahola et al., 2005), dando suporte à conclusão de Phillipppo et al. (1987) de que a menor amplitude do pico de LH, observado em novilhas deficientes em Cu, se deveu ao excesso de molibdênio da dieta.

A subfertilidade responsiva ao cobre parece resultar da perturbação do padrão normal de crescimento e desenvolvimento do folículo ovulatório, efeito mediado em parte pela atividade da lisil-oxidase, que é expressa pelas células granulosas do folículo. A atividade da lisil-oxidase fica comprometida na deficiência de cobre. A lisil-oxidase é essencial para a estabilização da matriz extracelular, já que é responsável pelo *cross-linking* do colágeno e da elastina. As interações entre as células e a matriz extracelular determinam as funções das células e dos tecidos e modulam as respostas aos estímulos. Durante o desenvolvimento do folículo ovariano acontecem mudanças e remodelações importantes na matriz extracelular. Essa matriz é considerada reguladora ativa da migração, da divisão, da diferenciação, da morte e da ancoragem celulares. A composição da matriz define o microambiente das células e é importante nessa regulação (Rodgers et al., 2003).

A lâmina basal do folículo é constantemente remodelada à medida que o folículo amadurece (Kendall et al., 2003; Rodgers et al., 2003). Acredita-se que as propriedades funcionais da lâmina basal, por exemplo, a permeabilidade a fatores de crescimento, sejam definidas, em parte, por sua composição. A lâmina basal do folículo parece influenciar a proliferação e a diferenciação das células granulosas, necessárias para o desenvolvimento normal do folículo (Rodgers & Irving-Rodgers, 2002).

O folículo é responsável pela produção de quase todo o estradiol produzido no ovário. O pico pré-ovulatório de estradiol é o sinal endócrino para o comportamento associado ao estro e pelo pico de LH que conduz à ovulação. A perturbação na atividade da lisil-oxidase na deficiência de cobre tem reflexos, portanto, na diferenciação celular induzida pelas gonadotrofinas, como o FSH, o que altera a produção de

estradiol pelo folículo diferenciado. O estradiol ovariano tem papel fundamental no controle do transporte de gametas e no preparo do útero para a implantação do embrião, de modo que, mesmo se ocorrer ovulação, a taxa de fertilidade pode ser prejudicada por produção insuficiente de estradiol (Kendall et al., 2003).

Fetos de matrizes deficientes em cobre apresentaram graves anomalias estruturais, incluindo defeitos ósseos, pulmonares e cardiovasculares. Neonatos deficientes em cobre tipicamente apresentam severa anomalia no tecido conjuntivo (Gambling & McArdle, 2004). Vários mecanismos foram sugeridos para explicar a influência da deficiência de cobre sobre o desenvolvimento embrionário e fetal, incluindo excessivo dano oxidativo secundário ao comprometimento do sistema de defesa antioxidante (associado à peroxidação lipídica excessiva, ao dano oxidativo à proteína e à morte celular), redução da atividade da monoxigenase (importante para ativação hormonal), alteração na angiogênese, comprometimento na produção de energia e alterações na integridade e na composição da matriz extracelular resultantes da menor atividade da lisil-oxidase (Keen et al., 1998; Keen et al., 2003a; Keen et al., 2003b). A deficiência de cobre em bovinos foi relacionada ao aumento na frequência de aberrações cromossômicas, provavelmente devido ao aumento no estresse oxidativo relacionado à menor atividade catalítica da superóxido-dismutase (Abba et al., 2000).

A ataxia neonatal, comum em cordeiros deficientes em cobre, é pouco observada em bezerros (Graham, 1991). Essa anomalia é encontrada em cordeiros nascidos de ovelhas cuja gestação ocorreu em pastos deficientes em cobre. Essa desordem parece ser provocada pela baixa concentração de cobre no cérebro, a qual leva à deficiência de citocromo-oxidase (comprometendo a produção de ATP) nos neurônios motores e resulta em aplasia da mielina que circunda esses neurônios (Graham, 1991). A suplementação da dieta dos cordeiros com ataxia neonatal não reverte os sinais neuromusculares, mas a suplementação da dieta das mães durante a gestação previne o

problema. Frequentemente as mães de cordeiros afetados não têm qualquer sinal aparente de deficiência. Na deficiência de cobre, a neuroquímica cerebral também é afetada. As crias apresentaram, de modo localizado, diminuição na concentração de noradrenalina e aumento na concentração de dopamina (Gambling & McArdle, 2004).

Além do efeito sobre o desenvolvimento neurológico, fetos e neonatos deficientes em cobre têm hemorragias cardíacas características, provável resultado da redução do conteúdo e da estabilidade da elastina, provocada por diminuição na atividade da lisil-oxidase (Hostetler et al., 2003). As artérias carótidas e cerebrais de neonatos deficientes tendem a apresentar elastina esparsa, pouco desenvolvida, em que falta o arranjo conciso de fibrilas encontrado nos animais sadios (Gambling & McArdle, 2004).

Igualmente, a deficiência de cobre materna pode afetar a expressão e a atividade genética da cria depois do nascimento, pelo menos em roedores. Há indicações de que a deficiência pré-natal de cobre pode alterar permanentemente a expressão de proteínas envolvidas no metabolismo do cobre, como a metalotioneína (Keen et al., 2003b; Gambling & McArdle, 2004).

## 4.5 Iodo

A única função fisiológica conhecida do iodo é como componente dos hormônios tireoidianos: tiroxina ( $T_4$ ) e triiodotironina ( $T_3$ ). Os hormônios tireoidianos influenciam virtualmente todos os órgãos em algum estágio de desenvolvimento, crescimento e maturação. Os efeitos do hormônio tireoidiano são órgão-específicos, mas geralmente incluem aumento de lipólise, de glicólise, de função cardíaca, de resposta cardíaca, de consumo de oxigênio e de taxa metabólica quando  $T_3$  e  $T_4$  circulantes estão altos. O *status* da tireóide influi ainda na maturação epitelial, na função reprodutiva, no desenvolvimento ósseo e na gênese do embrião e do feto. Os sinais da deficiência de iodo podem ser acompanhados por alargamento da tireóide (bócio) e, quando extrema, por

hipotireoidismo. O consumo de alimento deficiente em iodo causa deficiência primária de iodo; a deficiência secundária pode ocorrer em consequência da ingestão de substâncias que interferem no metabolismo do iodo (Graham, 1991). A secreção de iodo no leite pode ser uma fonte significativa de perda de iodo para vacas em lactação, especialmente nas de alta produção. A deficiência de iodo pode induzir o hipotireoidismo, que se caracteriza por fraqueza muscular, redução na taxa metabólica basal, no crescimento, na produção cardíaca e na contração muscular, alterações na pele e nos pêlos e redução nas secreções apócrinas. Um sinal típico da deficiência de I é a redução da fertilidade, decorrente de cessação do estro, de intervalos irregulares de estros, de aumento na taxa de serviço por concepção, de abortos, de retenção de placenta, e de bezerros natimortos ou fracos, alopécicos e com bócio endêmico.

Mixedema (edema dos tecidos conjuntivos) também pode ser encontrado nesses bezerros (Graham, 1991). O hipotireoidismo afeta a função neural durante a vida fetal. Em bovinos, o iodeto é transportado prontamente pela placenta para o feto e a função da tireóide se inicia cedo na fetogênese (Graham, 1991). O funcionamento adequado das glândulas tireóides da mãe e do feto é necessário para assegurar que o desenvolvimento neurológico do feto progrida normalmente (Glinioer, 2001). Bovinos parecem ser menos susceptíveis à deficiência de iodo do que eqüinos, suínos, ovinos e caprinos (Hetzl et al., 1988; Graham, 1991). Embora o cretinismo seja comum em cordeiros nascidos de ovelhas severamente deficientes em iodo, não é comum em bezerros. As lesões neurológicas observadas em cordeiros na deficiência de iodo incluem impedimento na migração e na mielinização de neuroblastos, o que afeta a maturação do córtex cerebral e do cerebelo. Selênio e iodo são necessários para o metabolismo normal de hormônio tireoidiano, em algumas espécies, e a atividade da iodotironina-deiodinase, uma selenoenzima, pode aumentar na tentativa dos mecanismos homeostáticos para compensar a deficiência de iodo (Zagrodzki et al., 1998).

## 4.6 Manganês

O manganês atua como ativador ou como constituinte de várias enzimas, por exemplo, glicosiltransferases, piruvato-carboxilase, superóxido-dismutase, arginase e glutamino-sintetase. Bezerros nascidos de vacas deficientes em manganês apresentam fraqueza e graves deformidades dos membros (membros curtos, articulações alargadas e inchadas, deformidades de flexão). Os mecanismos pelos quais o Mn influencia a reprodução são múltiplos. Deficiência de manganês induz disfunções reprodutivas: queda na fertilidade de machos e de fêmeas, aumento do número de serviços por concepção, anestro e ciclos irregulares. Parte dos efeitos da deficiência de Mn provavelmente se relacionam à síntese anormal de proteoglicanas provocada pela redução na atividade de glicosiltransferases (Graham, 1991).

As proteoglicanas consistem em um núcleo de proteína ligado a glicosaminoglicanas. Vários tipos de proteoglicanas foram encontrados no ovário. As proteoglicanas exercem uma série de funções biológicas nos tecidos, que incluem crescimento e diferenciação celular, homeostase hídrica e regulação de fatores de crescimento. A diferença nos padrões de expressão de algumas das proteoglicanas sugere que elas desempenham papéis importantes no desenvolvimento. O perlecano é uma proteoglicana de sulfato de heparano encontrada na lâmina basal dos folículos ovarianos antrais, tanto saudáveis como atresícos. O perlecano não é perdido durante a atresia e a regressão folicular, mas praticamente não é observado na lâmina basal de folículos pré-antrais ou primordiais. A função primordial do perlecano deve ser estrutural. O perlecano interage com vários componentes da lâmina basal, incluindo a laminina, o colágeno do tipo IV e a fibronectina. É provável que o perlecano estabilize a lâmina basal folicular durante a foliculogênese. Acredita-se também que a expressão do perlecano durante a formação do antro seja fundamental para a formação do fluido folicular. O perlecano pode interagir com fatores de crescimento e suas proteínas de

ligação por meio de suas cadeias laterais de sulfato de heparano (McArthur et al., 2000). A redução da atividade de glicosiltransferases na deficiência de manganês poderia, dessa maneira, influenciar a atividade ovariana de maneira análoga àquela proposta para a deficiência de cobre (Kendall et al., 2003).

Uma das três principais isoenzimas da superóxido-dismutase encontrada em seres humanos é dependente de Mn (Mn-SOD) e está localizada na mitocôndria. Estudos com células da linhagem do fibroblasto mostraram que a Mn-SOD promove diferenciação celular, um efeito fundamental durante o desenvolvimento fetal inicial. Em cultura, embriões bovinos na fase de pré-implantação transcrevem e expressam essa enzima (Hostetler et al., 2003).

Alguns autores (Graham, 1991; Hostetler et al., 2003) comentaram a importância do manganês para a síntese de esqualeno, precursor do colesterol, a partir de ácido mevalônico. Como o colesterol é precursor de hormônios esteróides (entre eles, progesterona e estrógenos), a deficiência de manganês poderia afetar a esteroidogênese. Entretanto, embora a atividade da esqualeno-sintetase exija a presença de um íon metálico divalente (Mg ou Mn), a velocidade dessa reação é maior na presença de Mg (Beytia et al., 1973).

Recentemente, o manganês foi relacionado ao estímulo da puberdade em ratas (Pine et al., 2005). O manganês estimulou a liberação pré-puberal de hormônio liberador do hormônio luteinizante (LHRH) no hipotálamo e pode contribuir para a indução da puberdade.

#### **4.7 Selênio**

Deficiências de Se e desordens que respondem ao selênio foram relatadas frequentemente. Algumas selenoproteínas mais conhecidas são glutathiona-peroxidase, deiodinases e tioredoxina-redutase. Por essa associação, o selênio está relacionado ao catabolismo de peróxidos gerados na oxidação de lipídios. O selênio tem papel importante na



manutenção da integridade de células e de organelas, e por meio desse mecanismo pode ser importante para proteger o feto jovem da morte por estresse oxidativo (Hostetler et al., 2003). Kamada & Ikumo (1997) relataram que o selênio, provavelmente como parte de uma enzima, protege as células luteais da peroxidação lipídica, auxiliando na manutenção da integridade do corpo lúteo.

A deficiência de Se foi associada à degeneração e à necrose de diversos tecidos, incluindo a necrose miocárdica e a necrose dos músculos das extremidades (doença do músculo branco), assim como à alteração da resposta imunológica, que favorece infecções, desordens reprodutivas e redução no crescimento. Muitas das condições (como a doença do músculo branco) associadas à deficiência de selênio são de fato deficiências combinadas de Se e de vitamina E, e respondem positivamente a qualquer desses nutrientes. As principais lesões se devem à redução da atividade da glutathiona-peroxidase, a qual leva a excessivo aumento na peroxidação de componentes celulares por radicais livres.

A deficiência de outros antioxidantes (vitaminas A e E) pode aumentar a expressão da deficiência de Se, especialmente se há inflamação concomitante. Efeitos patológicos da deficiência isolada de Se foram recentemente reconhecidos em animais, relacionados ao declínio da atividade microbicida do neutrófilo e à redução da atividade da 5'-deiodinase, necessária para a síntese de  $T_3$  a partir de  $T_4$ . A deficiência de selênio pode causar infertilidade, aborto, nascimento de bezerros fracos ou mortos e retenção de placenta (Conrad et al., 1985; Ullrey, 1987; Graham, 1991; World Health Organization, 1996). Bezerros jovens deficientes em selênio podem ser afetados por degeneração da musculatura esquelética e da musculatura cardíaca (doença do músculo branco), acompanhada por fraqueza e por diarreia, de alta mortalidade (Graham, 1991). Sugeriu-se que a alta incidência de problemas relacionados à deficiência de selênio em recém-nascidos indicaria transferência ineficiente de selênio pela placenta ou requisitos muito mais altos desse elemento em animais jovens (Hostetler et al., 2003).

## **5. Importância dos minerais na fertilidade e na libido de reprodutores**

Há menor número de estudos específicos sobre a influência de minerais na reprodução de machos. Vários deles foram feitos visando à melhor compreensão de problemas de reprodução humana.

### **5.1 Fósforo**

Como comentado, o fósforo desempenha importante papel na fertilidade. O fósforo é essencial nos processos de transferência de energia. Na deficiência de fósforo, a hipófise não funciona a contento, já que seu metabolismo de energia é alto, e o fósforo desempenha papel-chave no armazenamento e na distribuição da energia. A deficiência de fósforo em machos pode acarretar degeneração testicular (Martin,1993). O AMPc também está relacionado com a motilidade e a capacitação espermática (Lapointe et al., 1996). A participação do fósforo no AMPc e em fosfolipídios pode influenciar a ação hormonal. Em machos, a infertilidade por fósforo em geral ocorre depois da manifestação de outros sinais de deficiência (Martin,1993).

### **5.2 Cálcio**

O cálcio, atuando como segundo mensageiro, tem importante papel na regulação dos processos que permitem ao espermatozóide desenvolver sua capacidade de fertilização. A espermatogênese é um processo complexo e muito organizado, pelo qual a espermatogônia prolifera e se diferencia para originar o espermatozóide maduro. Esse processo depende da capacidade da espermatogônia de proliferar e entrar no programa de diferenciação que inclui a meiose. Há evidências de que a elevação do  $\text{Ca}^{++}$  intracelular é um sinal essencial para divisão, diferenciação e maturação celulares (Santi et al., 1998).

As concentrações intracelulares de cálcio tem papel fundamental em todas as atividades que ocorrem nos espermatozóides depois da ejaculação. O espermatozóide apresenta aparente inatividade dos processos de transcrição e de tradução, de modo que todas as suas atividades são levadas a cabo por um conjunto de proteínas herdadas durante a diferenciação. O controle das atividades no espermatozóide maduro é exercido pela regulação dessas proteínas por meio de mensageiros secundários (Jimenez-Gonzalez et al., 2006).

As concentrações de cálcio intracelular regulam a motilidade e a hiperativação do espermatozóide, a quimotaxia, a capacitação, a reação do acrossoma, a ligação e a fusão do espermatozóide e do ovócito e a ativação metabólica do embrião. Apesar de seu tamanho limitado e de sua aparente simplicidade estrutural, o espermatozóide possui mecanismos sofisticados de regulação das concentrações de Ca no citoplasma e da geração da complexa sinalização de Ca. Esses mecanismos incluem compartimentos para armazenamento do Ca e um conjunto de canais e bombas na membrana plasmática. A regulação seletiva desses vários componentes provavelmente capacita o espermatozóide a gerar sinais localizados de Ca, o que permite ativação seletiva das funções celulares (Fraser, 1994; Santi et al., 1998; Branham et al., 2006; Breitbart et al., 2006; Jimenez-Gonzalez et al., 2006).

Para que ocorra a fecundação do ovócito, é necessário que o espermatozóide seja capacitado. O processo de capacitação depende de alterações da permeabilidade da membrana ligadas ao transporte dos íons de  $\text{Ca}^{++}$  (Breitbart, 2002). A menor fertilidade do sêmen de touros criopreservado depois do descongelamento foi relacionada à maior concentração de Ca intracelular, provavelmente provocada por danos induzidos pela criopreservação às membranas celulares. Nessas condições, o controle delicado da concentração de cálcio na célula não pode ser mantido, não permitindo a regulação dos processos necessário à fertilização (Collin et al., 2000).

### 5.3 Potássio e Sódio

A deficiência alimentar de sódio, bem como a de potássio, diminui a fertilidade. Esta situação, no entanto, é pouco freqüente e pode ocorrer, no caso do Na, quando não há suplementação da dieta com sal comum. À semelhança do cálcio, estes elementos são responsáveis pela motilidade dos espermatozóides (Silva et al., 1993).

O potássio é correlacionado também com a concentração do sêmen e a porcentagem de espermatozóides vivos. O sódio também está relacionado à manutenção da pressão osmótica. O potássio e o sódio regulam o pH do sêmen (Silva et al., 1993).

### 5.4 Zinco

A deficiência de zinco leva à disfunção gonadal (Miller et al., 1958; Prasad et al., 1967), à falha na espermatogênese, à redução na secreção de testosterona, à diminuição do peso testicular e à atrofia dos túbulos seminíferos (Miller et al., 1958; Taneja & Nirmal, 1980; Saxena et al., 1991; Kaji, 2001), além de estar ligada a crescimentos malignos nos testículos (Gunn & Gould, 1970).

É comum observar-se hipogonadismo em machos deficientes em zinco, o que foi relacionado às células de Leydig. As células de Leydig são a principal fonte de andrógenos, entre eles a testosterona, no macho. A deficiência de zinco prejudica a resposta das células de Leydig às gonadotrofinas (Kaji, 2001). Martin et al. (1994) descreveram queda no desenvolvimento testicular de carneiros deficientes em zinco. Esses autores atribuíram os resultados tanto à redução na concentração de gonadotrofinas devido à redução do apetite, quanto ao efeito direto da deficiência de zinco na produção de testosterona, fator crítico para o crescimento, para o desenvolvimento e para a função dos túbulos seminíferos. Muitas das proteínas essenciais à maturação

epididimal dos espermatozóides são andrógeno-dependentes (Flickinger, 1981; Haider et al., 1983), de modo que estes podem ser prejudicados na deficiência de zinco.

As gônadas são os tecidos que mais rapidamente crescem no organismo. Enzimas vitais para a síntese de ácidos nucléicos e de proteínas são metaloenzimas dependentes de zinco, tais como a DNA-polimerase, a RNA-polimerase e a timidina-quinase (Slater et al., 1971; Prasad & Oberleas, 1973). Assim, o microelemento está relacionado à integridade funcional do DNA, por evitar sua destruição mediante inibição de enzimas degradantes (Coleman, 1983). Os efeitos da deficiência alimentar do zinco são mais acentuados em animais jovens, durante a fase puberal (Silva et al., 1993), e o comprometimento da estrutura testicular, comum nesta fase, é irreversível (Hidiroglou & Knipfel, 1984).

No sêmen, o zinco está presente em alta concentração, tanto no plasma seminal como na cabeça, na peça intermediária e na cauda dos espermatozóides; a cabeça espermática tem quatro vezes mais zinco do que o plasma seminal. O zinco disponibilizado pela próstata assegura que haja zinco necessário no núcleo do espermatozóide, importante para a estabilidade da estrutura quaternária da cromatina e para a preservação da integridade genômica (Kaji, 2001). O zinco liga-se aos grupamentos sulfídricos das cisteínas e dessa forma auxilia a compactação do DNA e a proteção de protaminas da oxidação. As protaminas são proteínas responsáveis pelo empacotamento do DNA espermático (Denny & Ashworth, 1991). Este zinco presente no espermatozóide contribui para prolongar a vida funcional do ejaculado (Kvist & Bjorndhal, 1985). Concentração insuficiente de zinco no núcleo pode desestabilizar a estrutura quaternária da cromatina e reduzir o conteúdo de DNA do espermatozóide e assim diminuir sua capacidade de fertilização (Quinn, 1968; Kvist et al., 1988).

As concentrações de zinco nos diferentes compartimentos do espermatozóide e no plasma seminal variam constantemente. A concentração de zinco do espermatozóide aumenta à medida que ele migra do testículo para a uretra,

influenciado pela alta concentração de zinco do plasma seminal (Kaji, 2001). A eliminação do zinco no flagelo durante a maturação no epidídimo tem papel importante na função das fibras densas externas e na motilidade progressiva do espermatozóide no bovino. No ejaculado, aproximadamente 90% do zinco está localizado na peça intermediária e na cauda do espermatozóide, especialmente nas fibras densas externas, elementos rígidos estruturais necessários para a geração da motilidade. O zinco é inicialmente incorporado às fibras densas externas para protegê-las de oxidação prematura. À medida que o deslocamento dos espermatozoides progride no epidídimo, o conteúdo de zinco nas fibras densas externas diminui; isto permite a formação de pontes de dissulfeto, que enrijecem as fibras, e possibilita melhor utilização da energia (Henkel et al., 1999; 2003). A concentração de zinco do espermatozóide regula alguns processos ligados à penetração e à fertilização do ovócito. Depois da penetração do ovócito, o núcleo do espermatozóide sofre descondensação e forma o pronúcleo. Essa descondensação requer a redução da concentração de zinco, que inibe o processo. Durante a formação do pronúcleo, também ocorre a separação da cauda do espermatozóide. O zinco contribui para a estabilização da ligação entre a cabeça e a cauda do espermatozóide, e a redução da concentração de zinco do espermatozóide induz separação entre eles (Kaji, 2001).

Oliveira et al. (2004) trabalharam com diferentes concentrações de zinco na dieta, o que afetou significativamente a qualidade seminal. Touros que receberam dietas sem zinco suplementar ou com 30 mg/kg diários de zinco inorgânico apresentaram menor prevalência de espermatozoides morfolologicamente normais do que animais que tinham maior aporte (60 mg/kg) desse elemento na dieta. Porém, os defeitos foram mais marcantes no tratamento sem zinco suplementar, observando-se menor motilidade dos espermatozoides e defeitos na peça intermediária, com predominância de formas fraturadas e do tipo dag, e na cauda, com predominância dos tipos retroaxial e fortemente dobrada.

## 5.5 Manganês

O manganês é constituinte de uma metaloenzima que está ligada à síntese de esteróides e ao aumento dos hormônios gonadais. Como comentado anteriormente, o colesterol é precursor dos hormônios esteróides. A enzima farnesilpírofosfato-sintetase é ativada pelo manganês em um dos passos que pode controlar a síntese de colesterol (Hidiroglou, 1979; Graham, 1991). Na deficiência de manganês, ocorre inibição da síntese de colesterol e de seus precursores, o que limita a síntese de hormônios sexuais (Martin, 1993). Em touros, observa-se degeneração testicular, diminuição do volume do ejaculado e redução na motilidade e no número de espermatozóides, assim como aumento no número de espermatozóides anormais, não afetando a libido (Martin, 1993).

Sistemas hormonais dependentes de mensageiros como adenilato-ciclase, guanilato-ciclase e calmodulina são modulados por sais intracelulares. O manganês é um estimulante poderoso da atividade da adenilato-ciclase na célula espermática e as concentrações de AMPc foram correlacionadas com motilidade dessas células. Um estudo com sêmen congelado mostrou que a presença de manganês (e de magnésio) melhorou a fertilidade e propiciou maior manutenção da viabilidade espermática (Lapointe et al., 1996). Estudos em carneiros mostraram que o gossipol inibe a atividade da adenilato-ciclase. O gossipol forma um complexo na proporção de 2:1 com manganês, reduzindo sua biodisponibilidade. A infertilidade induzida pelo gossipol pode ser revertida com a elevação da concentração de manganês na dieta (White et al., 1988).

Recentemente estudos com ratos mostraram que o manganês atua diretamente no hipotálamo, estimulando a secreção de LHRH, LH e FSH. A secreção de LH controla a produção de testosterona pelas células de Leydig, o que provoca aumento na espermatogênese e acelera o início da puberdade (Lee et al., 2006). Resultados semelhantes foram encontrados por Prestifilippo et al. (2007).

## 5.6 Selênio

O selênio atua como potente antioxidante e foi associado à infertilidade de machos. A deficiência de selênio causa estresse oxidativo nos testículos pela diminuição da atividade antioxidante da glutathione-peroxidase. A deficiência de selênio foi associada com o aumento da expressão de genes envolvidos no estresse oxidativo. Deficiência de selênio leva à anormalidade na espermatogênese. Dados de pesquisa sugerem que em concentrações inadequadas – deficiência ou excesso –, o selênio causa parada do ciclo celular e aumento da apoptose, pela geração de espécies reativas de oxigênio (Kaushal & Bansal, 2007).

Slaweta et al. (1988) relataram aumento significativo na atividade da glutathione-peroxidase dependente de selênio, no outono, relacionando-o à redução da peroxidação lipídica no sêmen de bovinos. O selênio também está relacionado com o metabolismo da vitamina E. A deficiência da vitamina E em machos em crescimento leva à degeneração das espermatogônias, resultando em baixa concentração de espermatozóides (Pereira et al. 1998). O selênio também está relacionado à maturação do espermatozóide nos epidídimos e com o fornecimento de ATP. Suínos alimentados com dieta deficiente em selênio apresentaram anomalias na estrutura das mitocôndrias do espermatozóide, baixa concentração de ATP e maior número de defeitos citoplasmáticos no espermatozóide (Marin-Guzman et al., 2000).

## 5.7 Cobre

Em touros, a administração de cobre na dieta melhorou a qualidade do sêmen. A melhora foi associada com a motilidade espermática e com o número de espermatozóides mortos. Não há evidências claras sobre a relação entre a concentração de cobre sanguíneo, a concentração de cobre hepático e a fertilidade (Hidiroglou, 1979). O cobre é encontrado geralmente associado a proteínas e na forma iônica é tóxico para os espermatozóides. Como já foi comentado, o cobre é integrante da superóxido-



dismutase e da ceruloplasmina, que são necessárias para a manutenção do equilíbrio na formação e na desativação de radicais livres e, como tal, sua deficiência implica menor disponibilidade dessas moléculas.

## **5.8 Iodo**

A deficiência de iodo pode influenciar a fertilidade, desde que afete a tireóide. A introdução de iodo na dieta pode levar à melhora da libido e ao aumento da concentração e da motilidade do sêmen (Silva et al., 1993). A tireoidectomia foi associada com ausência de libido em touros, e machos com baixo desempenho sexual apresentaram resposta à suplementação com tireoproteína (Graham, 1991).

O acréscimo deste elemento na alimentação pode provocar aumento na atividade tireoidiana, que, por sua vez, melhora a capacidade reprodutiva pelo estímulo provocado sobre a hipófise anterior, responsável pela secreção de gonadotrofinas (Silva et al., 1993).

## **6. Correção de deficiências minerais**

Embora não seja o objetivo desta revisão discutir a suplementação para a correção de desequilíbrios e de deficiências de elementos minerais na dieta, este assunto será abordado brevemente, e algumas publicações dedicadas à suplementação mineral serão indicadas. A suplementação mineral possibilita a manutenção da saúde e de boas taxas de desempenho. Para que a mistura seja formulada corretamente, são necessárias informações sobre as características da região, identificação das deficiências minerais e das exigências nutricionais, e estimativas de ingestão e de qualidade da dieta. As fontes de minerais utilizadas devem ser palatáveis, de boa disponibilidade biológica e relativamente livres de contaminantes tóxicos. O consumo adequado de mistura mineral de boa qualidade é indispensável para o sucesso da suplementação. As pastagens devem dispor de sazeiros em

número e em tamanho adequados e de fácil acesso.

Pode haver um intervalo de tempo entre a correção da deficiência mineral e a resposta animal. Aurousseau et al. (2006) citaram trabalhos com ruminantes em que a suplementação de selênio aumentou a atividade de glutationa-peroxidase apenas depois de algumas semanas. Eles comentaram que esse efeito pode ter impacto importante em crias recém-nascidas, mais susceptíveis aos efeitos do estresse oxidativo no caso de as matrizes não terem recebido dietas adequadas durante a gestação.

A correção das deficiências de minerais pode melhorar muito o desempenho do rebanho. Conrad et al. (1985), numa compilação de resultados de pesquisa, verificaram que a média da taxa de natalidade aumentou de 52,9%, nos animais que receberam apenas sal comum, para 75,6%, nos animais que receberam outros minerais além do sal comum (Tabela 1).

**Tabela 1.** Efeito da suplementação mineral sobre o aumento da porcentagem de natalidade de bovinos em diferentes países. Os animais do grupo controle receberam sal comum.

País	Controle	Sal comum + suplemento mineral	
	Taxa de natalidade (%)	Taxa de natalidade (%)	Suplemento
Bolívia	67,5	80	Farinha de ossos
Bolívia	73,8	86,4	Fosfato bicálcico
Brasil	55	77	Mistura mineral completa
Brasil	49	72	Farinha de ossos
Brasil	25,6	47,3	Farinha de ossos
Colômbia	50	84	Mistura mineral completa
Panamá	62,2	68,8	Fosfato bicálcico + superfosfato triplo
Panamá	42	80	Farinha de ossos
Peru	25	75	Fosfato bicálcico + sulfato de cobre
Filipinas	57	79	Mistura mineral completa
Filipinas	76	80-82	Mistura mineral completa
África do Sul	51	80	Farinha de ossos
Tailândia	49	67	Farinha de ossos
Uruguai	48	64	Farinha de ossos
Uruguai	86,9	96,4	Farinha de ossos
Uruguai	27	70	Fosfato bicálcico

Fonte: Conrad et al. (1985).

A absorção, a disponibilidade e a utilização de muitos elementos minerais pode ser limitada por diversos fatores, tais como competição entre íons – comum quando os íons têm o mesmo tamanho de orbital e o mesmo número de coordenação, por exemplo, zinco e cobre, ferro e manganês, cádmio e cobre (Keen et al., 2003a) –, valência do mineral consumido, pH do meio, fermentação ruminal, quelatação – com formação de complexos insolúveis –, saturação dos mecanismos de transporte e duração limitada da retenção. Sob certas condições, formas orgânicas de microelementos podem ter maior biodisponibilidade do que as formas inorgânicas, o que não significa necessariamente melhoria do desempenho animal. As ligações covalentes entre minerais e aminoácidos e entre minerais e peptídeos podem prover os microelementos de rotas múltiplas para absorção. Uma parte do transporte pode ocorrer por meio das rotas normais de absorção de minerais. Alternativamente, pode haver absorção de minerais por meio do transporte de aminoácidos, dipeptídeos e tripeptídeos na mucosa intestinal. A ligação dos minerais com aminoácidos e peptídeos limita a formação de complexos insolúveis com outros minerais ou com outros componentes da dieta, que poderiam tornar o elemento mineral menos disponível para o animal. Mais estudos são necessários para determinar quando a suplementação de microelementos orgânicos pode beneficiar o desempenho, especialmente em ruminantes (Hostetler et al., 2003). Informações sobre a escolha de suplementos minerais adequados podem ser encontradas em Moraes (2001), Nicodemo (2001) e Embrapa Gado de Corte (2001).

## 7. Comentários finais

As pastagens tropicais são geralmente deficientes em alguns minerais. É fundamental que reprodutores e matrizes recebam suplementos de boa qualidade em quantidade adequada para alcançar bom desempenho reprodutivo, com vacas parindo bezerros sadios todos os anos. Fica cada vez mais clara a importância dos minerais para a regulação do balanço oxidativo, ao mesmo tempo em que se evidenciaram lacunas de informação a respeito do seu papel em processos fisiológicos específicos da reprodução.

## 8. Referências bibliográficas

ABBA, M.; DE LUCA, J. C.; MATTIOLI, G.; ZACCARDI, E.; DULOUT, F. N. Clastogenic effect of copper deficiency in cattle. **Mutation Research**, v. 466, n. 1, p. 51-55, 2000 (resumo MedLine).

ACKER, H. The oxygen sensing signal cascade under the influence of reactive oxygen species. **Philosophical Transactions of the Royal Society**, v. 360, p. 2201-2210, 2005.

AGARWAL, A.; GUPTA, S.; SHARMA, R. K. Role of oxidative stress in female reproduction. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 3, p. 28, 2005. Disponível em: <<http://www.rbej.com/content/3/1/28>>. Acesso em: 27 fev. 2007.

AGARWAL, A.; SALEH, R. A.; BEDAIWY, M. A. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. **Fertility and Sterility**, v. 79, n. 4, p. 829-843, 2003.

AHOLA, J. K.; ENGLE, T. E.; BURNS, P. D. Effect of copper status, supplementation, and source on pituitary responsiveness to exogenous gonadotropin-releasing hormone in ovariectomized beef cows. **Journal of Animal Science**, v. 83, p. 1812-1823, 2005.

AUROSSEAU, B.; GRUFFAT, D.; DURAND, D. Gestation linked radical oxygen species fluxes and vitamins and trace mineral deficiencies in the ruminant. **Reproduction, Nutrition, Development**, v. 46, n. 6, p. 601-620, 2006.

BARNES, F. L. The effects of the early uterine environment on the subsequent development of embryo and fetus. **Theriogenology**, v. 53, n. 2, p. 649-658, 2000.

BEDARD, K.; KRAUSE, K.-H. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. **Physiological Review**, v. 87, p. 245-313, 2007.

BEYTIA, E.; QURESHI, A. A.; PORTER, J. W. Squalene synthetase. 3. Mechanism of the reaction. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 248, n. 5, p. 1856-1867, 1973.

BOWEN, J. A.; BURGHARDT, R. C. Cellular mechanisms of implantation in domestic farm animals. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 11, n. 2, p. 93-104, 2000.

BRANHAM, M. T.; MAYORGA, L. S.; TOMES, C. N. Calcium-induced acrosomal exocytosis requires cAMP acting through a protein kinase A-independent, Epac-mediated pathway. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 13, p. 8656-8666, 2006.

BREITBART, H. Intracellular calcium regulation in sperm capacitation and acrosomal reaction. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 187, n. 1-2, p. 139-144, 2002.

BREITBART, H.; RUBINSTEIN, S.; ETKOVITZ, N. Sperm capacitation is regulated by the crosstalk between protein kinase A and C. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 252, n. 1-2, p. 247-249, 2006.

CATT, K. J.; LOUMAYE, E.; WYNN, P. C.; IWASHITA, M.; HIROTA, K.; MORGAN, R. O.; CHANG, J. P. GnRH receptors and actions in the control of reproductive function. **Journal of Steroid Biochemistry**, v. 23, n. 5B, p. 677-689 (resumo PubMed), 1985.

CHANDRA, R. K. Nutrition and the immune system: an introduction. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 66, n. 2, p. 460S-463S, 1997.

COLEMAN, J. E. The role of zinc (II) in RNA and DNA polymerases. In: SPIRO, T. (Ed). **Metal ions in Biology, zinc enzymes**. New York: Wiley, 1983. v. 5, p. 219-252.

COLLIN, S., SIRARD, M. A., DUFOUR, M., BAILEY, J. L. Sperm calcium levels and chlortetracycline fluorescence patterns are related to the in vivo fertility of cryopreserved bovine semen. **Journal of Andrology**, v. 21, p. 938-943, 2000. Disponível em: <<http://www.andrologyjournal.org/cgi/reprint/21/6/938>>. Acesso em: 28 fev. 2007.

CONRAD, J. H.; MCDOWELL, L. R.; ELLIS, G. L.; LOOSLI, J. K. **Minerais para ruminantes em pastejo em regiões tropicais**. Gainesville: University of Florida, 1985. 90 p.

SILVA, D. S. **Produção *in vitro* de embriões bovinos com cisteamina**. 2006. 43 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Santa Maria, 2006. Disponível em: <[http://cascavel.cpd.ufsm.br/tede/tde\\_arquivos/8/TDE-2006-06-27T063903Z-44/Publico/dissert%20mestrado%20daniela%20scherer.pdf](http://cascavel.cpd.ufsm.br/tede/tde_arquivos/8/TDE-2006-06-27T063903Z-44/Publico/dissert%20mestrado%20daniela%20scherer.pdf)>. Acesso em: 29 fev. 2008.

DENNY, P.; ASHWORTH, A. A zinc finger protein-encoding gene expressed in the post-meiotic phase of spermatogenesis. **Gene**, v. 106. p. 221-227, 1991.

DODE, M. A. N. Aspectos fisiológicos da fecundação e estabelecimento da prenhez. In: SERENO, J. R. B.; LIMA, E. C. N. Z. (eds.). **Eficiência no manejo reprodutivo: sucesso no rebanho de cria**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2002. p. 117-134.

DUFFUS, J. H.; NORDBERG, M.; TEMPLETON, D. M. Glossary of terms used in toxicology, 2nd edition, (IUPAC Recommendations 2007). **Pure and Applied Chemistry**, v. 79, n. 7, p. 1153-1344, 2007. Disponível em: <<http://www.iupac.org/publications/pac/2007/pdf/7907x1153.pdf>>. Acesso em: 04 dez. 2007.

EGELMAN, D. M.; MONTAGUE, P. R. Calcium dynamics in the extracellular space of mammalian neural tissue. **Biophysical Journal**, v. 76, n. p. 1856-1867, 1999.

EMBRAPA GADO DE CORTE. Suplementação mineral do rebanho de corte. 2001. Disponível em: <<http://www.cnpqg.embrapa.br/publicacoes/naoseriadas/suplementacaomineral/>>. Acesso em: 27 ago. 2007.

FERREIRA, A. M. Nutrição e atividade ovariana em bovinos: uma revisão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 28, n. 9, p. 1077-1093, 1993.

FLICKINGER, C. J. Regional differences in synthesis, intracellular transport and secretion of protein in the mouse epididymis. **Biology of Reproduction**, v. 25, p. 871-883, 1981.

FRASER, L. R. Na + requirements for capacitation and acrosomal exocytosis in mammalian sperm. **International Review of Cytology**, n 149, p 1-46, 1994.

GAMBLING, L.; MCARDLE, H. J. Iron, copper and fetal development. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 63, p. 553-562, 2004.

GARTNER, R. J. W.; MURPHY, G. M.; HOEY, W. A. Effects of induced, subclinical phosphorus deficiency on feed intake and growth of beef heifers. **Journal of Agricultural Science**, v. 98, n. 1, p. 23-29, 1982.

GUÉRIN, P.; EL MOUATASSIM, S.; MÉNÉZO, Y. Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings. **Human Reproduction Update**, v.7, n.2, p.175-189, 2001.

GLINOER, D. Potential consequences of maternal hypothyroidism on the offspring: evidence and implications. **Hormone Research**, v. 55, n. 3, p. 109-114, 2001.

GODFREY, K. M.; BARKER, D. J. P. Fetal nutrition and adult disease. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, n. 5 (Suppl.), p. 1344S-1352S, 2000.

GRAHAM, T. W. Trace element deficiencies in cattle. **The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, v. 7, n. 1, p. 153-215, 1991.

GUNN, S. A.; GOULD, T. C. Cadmium and other mineral elements. In: JOHNSON, A. D.; GOMEZ, W. R.; DEMARK, N. L. VAN (Ed.). **The testis**. New York: Academic Press, 1970. v. 3, p. 377-481.

HADLEY, M. E. **Endocrinology**. 3rd. ed. New Jersey: Prentice-Hall International, 1992. 908 p.

HAFEZ, E. S. E. **Reprodução animal**. 4. ed. São Paulo: Manole, 1982. 720 p.

HAIDER, M. Z.; QAZI, M. H.; KHANUM, A.; ARSLAN, M. Effect of testosterone on epididymal proteins in castrated rhesus monkeys. **American Journal of Primatology**, New York, v. 4, p. 73-80, 1983.



HALL, P. F.; ALMAHBOBI, G. Roles of microfilaments and intermediate filaments in adrenal steroidogenesis. **Microscopy Research and Technique**, v. 36, n. 6, p. 463-479, 1997.

HANSEN, S. L. The Effect of dietary manganese on growth, reproductive performance, and manganese status of beef heifers. (Under the direction of Jerry W. Spears.). 2005. Disponível em: <<http://www.lib.ncsu.edu/theses/available/etd-07202005-190414/>>. Acesso em: 28 fev. 2007.

HENKEL, R.; BALDAUF, C.; SCHILL, W.-B. Resorption of the element zinc from spermatozoa by the epididymal epithelium. **Reproduction Domestic Animals**, v. 38, p. 97-101, 2003.

HENKEL, R.; BITTNER, J.; WEBER, R.; HUTHER, F.; MISKA, W. Relevance of zinc in human sperm flagella and its relation to motility. **Fertility and Sterility**, v. 71, n. 6. p. 1138-1143, 1999.

HETZEL, B. S.; CHAVADEJ, J.; POTTER, B. J. The brain in iodine deficiency. **Neuropathology and Applied Neurobiology**, v. 14, n. 2, p. 93-104, 1988.

HIDIROGLOU, M. Trace element deficiencies and fertility in ruminants: a review. **Journal of Dairy Science**, v. 62, p. 1195-1206, 1979.

HIDIROGLOU, M.; KNIPFEL, J. E. Zinc in mammalian sperm: a review. **Journal of Dairy Science**, v. 67, n. 6, p. 1147-1156, 1984.

HOLM, P.; SHUKRI, N. N.; VAJTA, G.; BOOTH, P.; BENDIXEN, C.; CALLESEN, H. Developmental kinetics of the first cell cycles of bovine in vitro produced embryos in relation to their in vitro viability and sex. **Theriogenology**, v. 50, n. 8, p. 1285-1299, 1998.

HOSTETLER, C. E.; KINCAID, R. L.; MIRANDO, M. A. The role of essential trace elements in embryonic and fetal development in livestock. **Veterinary Journal**, v. 166, n. 2, p. 125-139, 2003.

HURLEY, W. L.; DOANE, R. M. Recent developments in the roles of vitamins and minerals in reproduction. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 3, p. 784-804, 1989.

JANSSEN, Y. M.; VAN HOUTEN, B.; BORM, P. J.; MOSSMAN, B. T. Cell and tissue responses to oxidative damage. **Laboratory Investigation: A Journal of Technical Methods and Pathology**, v. 69, n. 3, p. 261-274, 1993.

JIMENEZ-GONZALEZ, C.; MICHELANGELI, F.; HARPER, C. V.; BARRATT, C. L. R.; PUBLICOVER, S. J. Calcium signalling in human spermatozoa: a specialized 'toolkit' of channels, transporters and stores. **Human Reproduction Update**, v. 12, n. 3, p. 253-267, 2006.

KAJI, M. Zinc in endocrinology. **International Pediatrics**, v. 16, n. 3, 2001. Disponível em: <<http://www.int-pediatrics.org/PDF/Volume%2016/16-3/kaji.pdf>>. Acesso em: 27 ago. 2007.

KAMADA, H.; IKUMO, H. Effect of selenium on cultured bovine luteal cells. **Animal Reproduction Science**, v. 46, n. 3-4, p. 203-211. 1997.

KANKOFER, M. Antioxidative defense mechanisms in bovine placenta and their importance for placental release. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 35, p. 229-233, 2000.

KASIMANICKAM, R.; KASIMANICKAM, V.; THATCHER, C. D.; NEBEL, R. L.; CASSELL, B. G. Relationships among lipid peroxidation, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, sperm parameters, and competitive index in dairy bulls. **Theriogenology**, v. 67, p. 1004-1012, 2007.

KAUSHAL, N.; BANSAL, M. O. Dietary selenium variation-induced oxidative stress modulates CDC2/cyclin B1 expression and apoptosis of germ cells in mice testis. **Journal of Nutritional Biochemistry**, 2007. Disponível em: [http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6T8P-4N3X0HX-3&\\_user=972049&\\_coverDate=02%2F22%2F2007&\\_rdoc=1&\\_fmt=&\\_orig=search&\\_sort=d&view=c&\\_acct=C000049646&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=972049&md5=7530f21a01459fa6909e35b9002abf00](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6T8P-4N3X0HX-3&_user=972049&_coverDate=02%2F22%2F2007&_rdoc=1&_fmt=&_orig=search&_sort=d&view=c&_acct=C000049646&_version=1&_urlVersion=0&_userid=972049&md5=7530f21a01459fa6909e35b9002abf00). Acesso em: 30 mar. 2007.

KEEN, C. L.; CLEGG, M. S.; HANNA, L. A.; LANOUE, L.; ROGERS, J. M.; DASTON, G. P.; OTEIZA, P.; URIU-ADAMS, J. Y. The plausibility of micronutrient deficiencies being a significant contributing factor to the occurrence of pregnancy complications. **The Journal of Nutrition**, v. 133, n. 5 (Suppl. 2), p. 1597S-1605S, 2003a.

KEEN, C. L.; HANNA, L. A.; LANOUE, L.; URIU-ADAMS, J. Y.; RUCKER, R. B.; CLEGG, M. S. Developmental consequences of trace mineral deficiencies in rodents: acute and long-term effects. **The Journal of Nutrition**, v. 133, n. 5 (Suppl. 1), p. 1477S-1480S, 2003b.

KEEN, C. L.; URIU-HARE, J. Y.; HAWK, S. N.; JANKOWSKI, M. A.; DASTON, G. P.; KWIK-URIBE, C. L.; RUCKER, R. B. Effect of copper deficiency on prenatal development and pregnancy outcome. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 67, n. 5 (Suppl.), p. 1003S-1011S, 1998.

KENDALL, N. R.; MARSTERS, P.; SCARAMUZZI, R. J.; CAMPBELL, B. K. Expression of lysyl oxidase and effect of copper chloride and ammonium tetrathiomolybdate on bovine ovarian follicle granulosa cells cultured in serum-free media. **Reproduction**, v. 125, n. 5, p. 657-665, 2003.

KENDALL, N. R.; MCMULLEN, S.; GREEN, A.; RODWAY, R. G. The effect of a zinc, cobalt and selenium soluble glass bolus on trace element status and semen quality of ram lambs. **Animal Reproduction Science**, v. 62, p. 277-283, 2000.

KREY, L.; LIU, H.; ZHANG, J.; GRIFO, J. Fertility and maternal age. Strategies to improve pregnancy outcome. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 943, p. 26-33, 2001.

KVIST, U.; BJORNDHAL, L. Zinc preserves an inherent capacity for human sperm chromatin descondensation. **Acta Physiologica Scandinavica**, Oxford, v. 124, p. 195-200, 1985.

KVIST, U.; KJELLBERG, S.; BJÖRNDÄHL, L.; HAMMAR, M.; ROOMANS, G. M. Zinc in sperm chromatin and chromatin stability in fertile men and men in barren unions. **Scandinavian Journal of Urology and Nephrology**, v. 22, n. 1, p. 1-6, 1988.

LAPOINTE, S.; AHMAD, I.; BUHR, M. M.; SIRARD, M. A. Modulation of postthaw motility, survival, calcium, uptake, and fertility of bovine sperm by magnesium and manganese. **Journal of Dairy Science**, v 79, n 12, p 2163-2169, 1996.

LAVEN, R. A.; PETERS, A. R. Bovine retained placenta: aetiology, pathogenesis and economic loss. **Veterinary Record**, v. 139, n. 19, p. 465-471, 1996.

LAWRENCE, T. L. J.; FOWLER, V. R. **Growth of farm animals**. Wallingford: CAB International, 1997. 330 p.

LEE, B.; PINE, M.; JOHNSON, L.; RETTORI, V.; HINEY, J. K.; DEES, W. L. Manganese acts centrally to activate reproductive hormone secretion and pubertal development in male rats. **Reproductive Toxicology**, v. 22, n. 4, p. 580-585, 2006.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Savier, 1984. 725 p.

LITTLE, D. A. Utilization of minerals. In: HACKER, J. B. **Nutritional limits to animal production from pastures**. Farnham Royal: CSIRO, 1984. p. 259-283.

MACINTYRE, D. M.; LIM, H. C.; RYAN, K.; KIMMINS, S.; SMALL, J. A.; MACLAREN, L. A. Implantation-associated changes in bovine uterine expression of integrins and extracellular matrix. **Biology of Reproduction**, v. 66, n. 5, p. 1430-1436, 2002.

MACKENZIE, G. G.; KEEN, C. L.; OTEIZA, P. I. Microtubules are required for NF- $\kappa$ B nuclear translocation in neuroblastoma IMR-32 cells: modulation by zinc. **Journal of Neurochemistry**, v. 99, n. 2, p. 402-415, 2006.

MAGLI, M. C.; FERRARETTI, A. P.; CRIPPA, A.; LAPPI, M.; FELICIANI, E.; GIANAROLI, L. First meiosis errors in immature oocytes generated by stimulated cycles. **Fertility and Sterility**, v. 86, n. 3, p. 629 -635, 2006.

MARIN-GUZMAN, J.; MAHAN, D. C.; WHITMOYER, R. M. Effect of dietary selenium and vitamin E on the ultrastructure and ATP concentration of boar spermatozoa, and the efficacy of added sodium selenite in extended semen on sperm motility. **Journal of Animal Science**, v. 78, n. 6, p. 1544-1550, 2000.

MARSTON, T. T.; LUSBY, K. S.; WETTEMANN, R. P.; PURVIS, H. T. Effects of feeding energy or protein supplements before or after calving on performance of spring-calving cows grazing native range. **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 3, p. 657-64, 1995.

MARTIN, L. C. T. **Nutrição mineral de bovinos de corte**. São Paulo: Nobel, 1993. p 39-125.

MARTIN, G. B.; WHITE, C. L.; MARKEY, C. M.; BLACKBERRY, M. A. Effects of dietary zinc deficiency on the reproductive system of young male sheep: testicular growth and the secretion of inhibin and testosterone. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 101, p. 87-96, 1994.

MCARTHUR, M. E.; IRVING-RODGERS, H. F.; BYERS, S.; RODGERS, R. J. Identification and immunolocalization of decorin, versican, perlecan, nidogen, and chondroitin sulfate proteoglycans in bovine small-antral ovarian follicles. **Biology of Reproduction**, v. 63, n. 3, p. 913-924, 2000.

MEYER M. D.; HANSEN, P. J.; THATCHER, W. W.; DROST, M.; BADINGA, L.; ROBERTS, R. M.; LI, J.; OTT, T. L.; BAZER, F. W. Extension of corpus luteum lifespan and reduction of uterine secretion of prostaglandin F2 alpha of cows in response to recombinant interferon-tau. **Journal of Dairy Science**, v. 78, p.1921-1931, 1995.

MILLER, M. J.; FISHER, P. V.; ELCOATE, P. V.; MAWSON, C. A. The effects of dietary zinc deficiency on the reproductive system of male rats. **Canadian Journal of Biochemistry Physiology**, Ottawa, v. 36, p. 557-569, 1958.

MILLS, C. F. Biochemical and physiological indicators of mineral status in animals: copper, cobalt and zinc. **Journal of Animal Science**, v. 65, n. 6, p. 1702-1711, 1987.

MORAES, S. S. **Importância da suplementação mineral para bovinos de corte**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2001. 26 p. (Embrapa Gado de Corte. Documentos, 114).

NICODEMO, M. L. F. **Cálculo de misturas minerais para bovinos**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2001. (Embrapa Gado de Corte. Documentos, 109).

NIITSU, A. Calcium is essential for ATP-induced steroidogenesis in bovine adrenocortical fasciculata cells. **Japanese Journal of Pharmacology**, v. 60, n. 3, p. 269-274, 1992.

O'DELL, B. L. Endpoints for determining mineral element requirements: an introduction. **Journal of Nutrition**, v. 126, n. 9 (Suppl.), p. 2342S-2344S, 1996.

OLIVEIRA, A. R.; MORAES, S. S.; FERNANDES, C. E. ., LOPES, S. C. P.; SOARES, C. O.; AMARAL, T. B.; MIRANDA, P. A. B. Efeito de diferentes níveis de zinco na dieta sobre a qualidade seminal e correlação com a concentração de zinco circulante e no plasma seminal em touros. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004. Campo Grande. A produção animal e a segurança alimentar: **Anais...** Campo Grande: SBZ, Embrapa Gado de Corte, 2004. 1 CD-ROM.

PEREIRA, J. V.; CHENOWETH, P. J.; McDOWELL, L. R.; RISCO, C. A.; STAPLES, C. A.; PRICHARD, D.; MARTIN, F. G.; COLHOUM, M. C.; WILLIAMS, S. N.; WILKINSON, N. S. Reproductive effects of feeding gossypol and vitamin E to bulls. **Journal of Animal Science**, v 76, n. 11, p 2894-2904, 1998.

PHILLIPPO, M.; HUMPHRIES, W. R.; ATKINSON, T.; HENDERSON, G. D.; GARTHWAITE, P. H. The effect of dietary molibdenum and iron on copper status, puberty, fertility and oestrous cycles in cattle. **Journal of Agricultural Science**, v. 109, p. 321-336, 1987.

PINE, M.; LEE, B.; DEARTH, R.; HINEY, J.K.; DEES, W.L. Manganese acts centrally to stimulate luteinizing hormone secretion: a potential influence on female pubertal development. **Toxicological Sciences**, v. 85, n. 2, p. 880-885, 2005.

POWELL, S. R. The antioxidant properties of zinc. **Journal of Nutrition**, v. 130, n. 5 (Suppl.), p. 1447S-1454S, 2000.

PRASAD, A. S.; OBERLEAS, D. Ribonuclease and deoxyribonuclease activities in zinc deficient tissues. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 82, p. 461-466, 1973.

PRASAD, A. S.; OBERLEAS, D.; WOLF, P.; HORWITZ, J. P. Studies on zinc deficiency: changes in trace elements and enzyme activities in tissues of zinc-deficient rats. **Journal Clinical Investigation**, v. 46, p. 549-557, 1967.

PRESTIFILIPPO, J. P.; FERNÁNDEZ-SOLARI, J.; MOHN, C.; DE LAURENTIIS, A.; MCCANN, S.M.; DEES, W.; RETTORI, V. Effect of manganese on luteinizing hormone-releasing hormone secretion in adult male rats. **Toxicological Sciences**, v. 97, n.1, p. 75-80, 2007.

QUINN, P. J. Deoxyribonuclease activity in semen. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 17, p. 25-41, 1986.

REIK, W.; DEAN, W. DNA methylation and mammalian epigenetics. **Electrophoresis**, v. 22, n. 14, p. 2838-2843, 2001.

RHODES III, R. C. **The physiology of gestation and parturition**. Dairy integrated reproductive management. West Virginia University, s/d. Disponível em: <<http://www.wvu.edu/~agexten/forglvst/Dairy/dirm3.pdf>>. Acesso em: 26 mar. 2007.

ROBINSON, C. J.; HALL, J.; BESHIR, S. O. Hormonal modulation of mineral metabolism in reproduction. **The Proceedings of the Nutrition Society**, v. 42, n. 2, p. 169-80, 1983.

RODGERS, R. J.; IRVING-RODGERS, H. F. Extracellular matrix of the bovine ovarian membrana granulosa. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 191, n. 1, p. 57-64, 2002.



RODGERS, R. J.; IRVING-RODGERS, H. F.; RUSSELL, D. L. Extracellular matrix of the developing follicle. **Reproduction**, n.126, p. 415-424, 2003.

SAKUMA, S.; FUJIMOTO, Y.; KITAO, A.; SAKAMOTO, H.; NISHIDA, H.; FUJITA, T. Simultaneous measurement of prostaglandin and arachidonoyl CoA formed from arachidonic acid in rabbit kidney medulla microsomes: the roles of  $Zn^{2+}$  and  $Cu^{2+}$  as modulators of formation of the two products. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 61, n. 2, p. 105-112, 1999.

SANTI, C. M.; SANTOS, T.; HERNANDEZ-CRUZ, A.; DARSZON, A. Properties of a novel pH-dependent  $Ca^{2+}$  permeation pathway present in male germ cells with possible roles in spermatogenesis and mature sperm function. **The Journal of General Physiology**, v. 112, n. 1, p. 33-53, 1998.

SANTOS, J. E.; DEPETERS, E. J.; JARDON, P. W.; HUBER, J. T. Effect of prepartum dietary protein level on performance of primigravid and multiparous Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 1, p. 213-24, 2001.

SAXENA, R.; BEDWAL, R. S.; MATHUR, R. S. Biochemistry of the testes of rats fed on zinc deficient diets. **Trace Elements in Medicine**, v. 8, p. 138-142, 1991.

SCHMIDT, K. Meet genetics´master chefs: All cells contain the same genetic information. So what makes a hair cell hairy or a bone cell bony? **New Scientist**, v. 142, n. 1922, p. 32, 1994.

SHARMA, M. C.; JOSHI, C. Therapeutic efficacy of zinc sulphate used in clustered model treatment in alleviating zinc deficiency in cattle and its effect on hormones, vitamins and production parameters. **Veterinary Research Communications**, v. 29, n. 7, p. 609-628, 2005.

SHEMESH, M.; HANSEL, W.; STRAUSS, J. F. Calcium-dependent, cyclic nucleotide-independent steroidogenesis in the bovine placenta. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 81, n. 20, p. 6403-6407, 1984.

SIMMS, D. D.; BLASI, D. A.; BOLZE, R. P.; BRAZLE, F. K.; CORAH, L. R.; ECK, T. P.; KUHL, G. L. **Beef cow nutrition guide**. Cooperative Extension Service, Kansas State University, 1993. Disponível em: <<http://www.oznet.ksu.edu/library/lvstk2/c735.pdf>>. Acesso em: 29 fev. 2008.

SILVA, A. E. D. F.; DODE, M. A. M.; UNANIAN, M. M. **Capacidade reprodutiva do touro de corte: funções, anormalidades e fatores que a influenciam**. Campo Grande: EMBRAPA, CNPGC, 1993. 128 p. (EMBRAPA, CNPGC. Documentos, 51).

SLATER, J. P.; MILDVAN, A. S.; LOEB, L. A. Zinc in DNA polymerases. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, New York, v. 4, p. 37-43, 1971.

SLAWETA, R.; LASKOWSKA, T.; SZYMANSKA, E. Seasonal changes in total and selenium-dependent glutathione peroxidase activity in bovine semen in relation to lipid peroxide. **Animal Reproduction Science**, v. 17, n. 3-4, 1988, p. 303-307. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/B6T43-49NRK6P-9P/2/a630f22ddb54115569c678157d38ae29>>. Acesso em: 1º mar. 2007.

STRYER, L. **Biochemistry**. 4<sup>th</sup> ed. New York: Freeman, 1995. 1064 p.

SUTTLE, N. F.; JONES, D. G. Recent developments in trace element metabolism and function: trace elements, disease resistance and immune responsiveness in ruminants. **Journal of Nutrition**, v. 119, n. 7, p. 1055-1061, 1989.

TANEJA, S. K.; NIRMAL, A. Histopathology of testes of mice fed on zinc deficient diet. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 18, p. 1411-1414, 1980.

TAPIERO, H.; TEW, K. D. Trace elements in human physiology and pathology: zinc and metallothioneins. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 57, n. 9, p. 399-411, 2003.

TERNOUTH, J. H. The kinetics and requirements of phosphorus in ruminants. **Recent Advances on the Nutrition of Herbivores**, v. 15, p. 143-151, 1991.

ULLREY, D. E. Biochemical and physiological indicators of selenium status in animals. **Journal of Animal Science**, v. 65, n. 6, p. 1712-1726, 1987.

UNDERWOOD, E. J. **The mineral nutrition of livestock**. Farnham Royal: Commonwealth Agricultural Bureaux, 1981. 180 p.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M. T. D.; ; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 39, p. 44-84, 2007. Disponível em: <[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6TCH-4KJTYSJ-1&\\_user=972049&\\_coverDate=12%2F31%2F2007&\\_rdoc=1&\\_fmt=&\\_orig=search&\\_sort=d&view=c&\\_acct=C000049646&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=972049&md5=cdda40c63cfedfd33cd875b570efc7da](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6TCH-4KJTYSJ-1&_user=972049&_coverDate=12%2F31%2F2007&_rdoc=1&_fmt=&_orig=search&_sort=d&view=c&_acct=C000049646&_version=1&_urlVersion=0&_userid=972049&md5=cdda40c63cfedfd33cd875b570efc7da)>. Acesso em: 27 ago. 2007.

VANROOSE, G.; DE KRUIF, A.; VAM SOOM, A. Embryonic mortality and embryo-pathogen interactions. **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, Special Issue, p. 131-143, 2000.

WHITE, I. G.; VISHWANATH, R.; SWAN, M. A.; BROWN-WOODMAN, P. D. Studies of the mechanism of action of gossypol as a male antifertility agent. **Contraception**, v. 37, n. 3, p. 269-277, 1988.

WICHTEL, J. J. Micronutrient research: why a cow is not a large rat. **Veterinary Journal**, v. 166, n. 2, p. 107-108, 2003.

WILDE, D. Influence of macro and micro minerals in the periparturient period on fertility in dairy cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 96, p. 240-249, 2006. Disponível em: <[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=MIimg&\\_imagekey=B6T43-4KJM010-5-1&\\_cdi=4963&\\_user=972049&\\_orig=search&\\_coverDate=12%2F31%2F2006&\\_sk=999039996&view=c&wchp=dGLzVzz-zSkWb&md5=cb69cda35c685e2b9762f19688aea068&ie=/sdarticle.pdf](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=MIimg&_imagekey=B6T43-4KJM010-5-1&_cdi=4963&_user=972049&_orig=search&_coverDate=12%2F31%2F2006&_sk=999039996&view=c&wchp=dGLzVzz-zSkWb&md5=cb69cda35c685e2b9762f19688aea068&ie=/sdarticle.pdf)>. Acesso em: 22 mar. 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Trace elements in human nutrition and health**. Genebra: WHO, 1996. 343 p.

ZAGRODZKI, P.; NICOL, F.; MCCOY, M. A.; SMYTH, J. A.; KENNEDY, D. G.; BECKETT, G. J.; ARTHUR, J. R. Iodine deficiency in cattle: compensatory changes in thyroidal selenoenzymes. **Research in Veterinary Science**, v. 64, n. 3, p. 209-211, 1998.

ZAID, A.; HUGHES, H. G.; PORCEDDU, E.; NICHOLAS, F. **Glossary of biotechnology and genetic engineering**. FAO Research and Technology Paper 7. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Roma, 1999. Disponível em: <<http://library.enaca.org/NACA-Publications/glossary-biotech-99.pdf>>. Acesso em: 12 dez. 2007.